

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

POROVNÁNÍ EXTRAKČNÍCH METOD PRO PRVKOVOU ANALÝZU ZEMĚDĚLSKÝCH PŮD

COMPARISON OF EXTRACTION METHODS FOR AGRICULTURE SOIL ELEMENTAL ANALYSIS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

VÁCLAV ŠTURSA

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. PAVEL DIVIŠ, Ph.D.

BRNO 2012



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0658/2011	Akademický rok: 2011/2012
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Václav Štursa	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Biotechnologie (2810R001)	
Vedoucí práce	Ing. Pavel Diviš, Ph.D.	
Konzultanti:	Ing. Jaromír Pořízka	

Název bakalářské práce:

Porovnání extrakčních metod pro prvkovou analýzu zemědělských půd

Zadání bakalářské práce:

- 1) zpracování literární rešerže na dané téma
- 2) výběr a optimalizace vhodných extrakčních technik pro prvkovou analýzu půd z vinic
- 3) vývoj metody pro analýzu extraktů půd z vinic technikou ICP-MS
- 4) zpracování naměřených dat a vzájemné porovnání extrakčních technik

Termín odevzdání bakalářské práce: 4.5.2012

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Václav Štursa
Student(ka)

Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2012

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá optimalizací postupu přípravy vzorku půd z vinic pro prvkovou analýzu metodou ICP-MS. První část práce pojednává o prvkové analýze a jejím využití v agrotechnice a ve vinařství, popisem toxických a nutričních vlastností jednotlivých prvků a legislativou definující příslušné koncentrační limity prvků v zemědělských půdách. Následně jsou popsány běžně užívané metody prvkové analýzy jako jsou AES, AAS, rentgenová fluorescenční spektrometrie a ICP-MS. V další části bakalářské práce jsou popsány metody odběru vzorků a jsou diskutovány rozkladné a extrakční postupy pro úpravu vzorků. Experimentální část práce se zabývá porovnáním vybraných extrakčních metod (extrakce 2 M HNO₃ za studena, extrakce 2 M HNO₃ za horka, extrakce Lučavkou královskou a mikrovlnný rozklad směsí HNO₃ a H₂O₂). Tyto metody byly aplikovány na certifikované materiály půd. Pro analýzu extraktů byla použita technika ICP-MS. Nejlepší výsledky vykazovala metoda extrakce 2 M HNO₃ za horka. Tato extrakce byla následně aplikována na reálné vzorky půdy z vinice

ABSTRACT

This bachelor thesis handles with optimization of preparation process of soil samples from vineyards useable in ICP-MS element analysis. First part deals with element analysis and its usage in agrotechnics and viticulture, description of toxic and nutrition properties of individual elements and legislation defining appropriate concentration limits of elements in agricultural land. Afterwards are described commonly used methods of element analysis such as AES, AAS, roentgen fluorescence spectrometry and ICP-MS. In other part of bachelor thesis are described methods of sampling and discussed digest and extraction procedures in sample adjustment. Experimental part follows up comparison of selected extraction methods (cool 2 M HNO₃ extraction, hot 2 M HNO₃ extraction, aqua regia extraction and microwave-assisted digestion using mixture of HNO₃ a H₂O₂). These methods were applied on certified reference materials. For extracts analysis was used technique ICP-MS. Best results expelled 2 M HNO₃ extraction. This extraction method was subsequently applied on real samples from vineyard.

KLÍČOVÁ SLOVA

půda, vinařství, extrakce, ICP-MS, prvková analýza

KEYWORDS

soil, viticulture, extraction, ICP-MS, elemental analysis

ŠTURSA, V. *Porovnání extrakčních metod pro prvkovou analýzu zemědělských půd*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2012. XY s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Velice rád bych poděkoval Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D., který mne vedl ke zdárnému dokončení této práce. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Jaromíru Pořízkovi pod jehož vedením jsem pracoval v laboratoři. Neposledně ředitelce našeho ústavu doc. Ing. Jiřině Omelkové, Csc., která mi práci s Jaromírem domluvila a nakonec bych chtěl poděkovat svému otci Ing. Jiřímu Štursovi za jeho podporu, kterou mi poskytl během studia na vysoké škole.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	PRVKOVÁ ANALÝZA A JEJÍ NUTNOST V POTRAVINÁŘSTVÍ	7
2.1	Půdy a jejich charakteristika	7
2.2	Půdní výživa vinné révy	8
2.3	Toxické a nutriční vlastnosti jednotlivých prvků	9
2.3.1	Měď	10
2.3.2	Mangan	10
2.3.3	Nikl	10
2.3.4	Zinek	11
2.3.5	Kobalt	11
2.3.6	Vanad	11
2.3.7	Chrom	11
2.3.8	Olovo	12
2.3.9	Kadmium	12
2.3.10	Arsen	12
2.4	Legislativa týkající se zemědělských půd	12
2.5	Legislativa týkající se vína	14
2.6	Metody prvkové analýzy, vývoj analytické metody	14
2.6.1	Atomová emisní spektrometrie (AES)	14
2.6.2	Atomová absorpční spektrometrie (AAS)	16
2.6.3	Zdroje záření	16
2.6.4	Rentgenová fluorescenční spektrometrie	18
2.6.5	Atomová hmotnostní spektrometrie buzená indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)	19
2.7	Extrakce vs. rozklady	22
2.8	Příprava půdního vzorku	22
2.9	Úpravy vzorku	23
2.9.1	Sušení a mletí půdy	23
2.9.2	Sítování	23
2.9.3	Kvartace	23
2.9.4	Extrakce	23
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	24
3.1	Laboratorní vybavení	24
3.1.1	Chemikálie	24
3.1.2	Pomůcky	24
3.1.3	Přístroje	24
3.2	Vybrané extrakční metody	24
3.2.1	Extrakce 2 M HNO ₃ za studena	24
3.2.2	Extrakce 2 M HNO ₃ za horka dle Anderssona	25
3.2.3	Extrakce Lučavkou královskou	26
3.2.4	Extrakce směsí kyseliny dusičné a peroxidu vodíku podporované mikrovlnným zářením	26
3.3	Aplikace na vzorek reálný vzorek půdy	27
3.3.1	Vzorkování půdy	27

3.3.2	Úpravy vzorku.....	27
3.4	Stanovení prvků metodou ICP-MS	27
4	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	28
4.1	Porovnání extrakčních metod.....	28
4.2	Porovnání výsledků s dostupnou literaturou	36
4.3	Analýza reálných vzorků.....	36
5	ZÁVĚR.....	38
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	39
7	SEZNAM ZKRATEK.....	42

1 ÚVOD

Velice významnou oblastí analytické chemie je prvková analýza. Je široce aplikována v mnoha průmyslových odvětvích a to i v zemědělství a potravinářství. Během uplynulých několika desítek let došlo především při rozvoji těžkého průmyslu a hutnictví k uvolnění mnoha polutantů (jako jsou např. těžké kovy) do celkového přírodního koloběhu látek, tedy i do zemědělských půd a odtud do plodin, které jsou konzumovány lidmi. K antropogennímu znečištění může docházet spadem popílku v oblastech blízko průmyslových zón, ale také nesprávným hnojením půdy. Časté užívání a nesprávné dávky ochranných a hnojících prostředků (herbicidy, insekticidy, fungicidy, hnojiva) způsobuje nerovnoměrnou distribuci prvků, které jsou v těchto přípravcích obsaženy, a k intoxikaci rostlin ionty prvků, které jsou v nižší koncentraci esenciální, avšak při zvýšené koncentraci se stávají toxickými. Pro zajištění nezávadnosti vypěstovaných potravin, které později se později dostávají dále do potravinového řetězce, je maximální přípustná koncentrace prvků v půdě upravena legislativou. Prvková analýza je tedy důležitým nástrojem v zemědělství a potravinářství.

V současné době existuje jen málo analytických metod schopných přímé analýzy pevných látek, pro analýzu je tak většinou nutné analyty převést do roztoku. Takto převedeny mohou být buď extrakcí nebo rozkladem matrice. Existuje řada metod a postupů, které se liší především použitými extrakčními a rozkladnými činidly, použitým laboratorním zařízením, ale i časovou a finanční náročností. Správnost použité metody je třeba vždy před samotnou analýzou ověřit. Jednou z možností je analýza certifikovaných materiálů a porovnání dosažených výsledků s výsledky certifikovanými.

Tato bakalářská práce se zabývá porovnáním extrakčních technik pro prvkovou analýzu půd z vinic. Cílem práce bylo vybrat a optimalizovat metodu přípravy půdního extraktu vhodného pro analýzu technikou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) a tu následně aplikovat na reálné vzorky viničních půd.

2 PRVKOVÁ ANALÝZA A JEJÍ NUTNOST V POTRAVINÁŘSTVÍ

Koloběh prvků v systému půda-voda-rostlina je sledován především proto, že na konci potravního řetězce stojí člověk, který přijímá potravu rostlinného a živočišného původu. Obecně se odedávna mezi vinaři tvrdí, že kvalita vína začíná ve vinici. K zajištění lepších výnosů a kvalitnějšího produktu je výhodné sledovat množství jednotlivých prvků jak v konečném potravinářském produktu (víně) tak v rostlině a její půdě.

2.1 Půdy a jejich charakteristika

Půda je svrchní část zemské kůry, která vzniká zvětráváním hornin. Půda jako taková ovlivňuje charakter vína a jeho kvalitu nepřímo, a to především z hlediska rostlinné výživy. Kromě organických látek, pocházejících z humusu, jsou v půdě rozpuštěny prvky především ve formě solí a iontů. Jejich migrace a rozpustnost závisí především na půdním druhu. Půdy dle zrnitosti rozdělujeme na několik základních půdních druhů (shrnuje v tabulce č.1). Dalšími sledovanými parametry u půdy jsou její textura a pórovitost. Na pórovitosti půdy závisí především distribuce vody, její zádrž a pohyb. U jemnějších (kapilárních) pórů je vysoká zádrž vody a omezený pohyb vzduchu. Střední (semikapilární) póry vytvářejí přechod až k hrubým (nekapilárním) pórům, kdy je charakteristický volný pohyb vody až do spodiny. Tu následuje vzduch, který pak vyplňuje prázdné póry bez vody. Tyto póry se podílejí na plynné výměně mezi půdou a ovzduším [9].

Tabulka č. 1 – půdní druhy, převzato z [9]

Obsah částic (zrn) menších než 0,01 mm v %	Označení druhu půdy	Klasifikace půdy
0-10	písčitá	lehká
10-20	hlinitopísčitá	lehká
20-30	písčitohlinitá	středně těžká
30-45	hlinitá	středně těžká
45-60	jílovitohlinitá	těžká
60-75	jílovitá	těžká
nad 75	jíl	těžká

Kromě půdních druhů dělíme půdy na půdní typy. Půdní typy dělíme dle jejich půdního profilu, tedy podílu jednotlivých půdních složek a druhu dané složky (humus, matečná hornina, jílový podíl, podíly obohacené/ochuzené o železo apod.). Půdní typy vyskytující se u nás jsou především černozemě, hnědozemě, luvizemě (illimerizované půdy), hnědé lesní půdy (kambizemě), podzoly, nivní půdy, rendziny, gleje a pseudogleje [10].

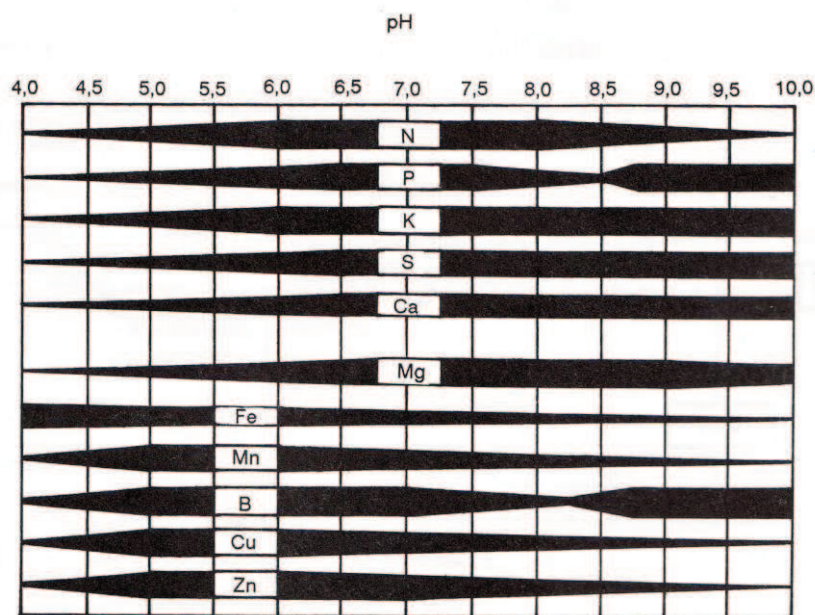
2.2 Půdní výživa vinné révy

Nižší kvalita vína a zdraví rostliny jsou spojeny s nesprávnou případně nedostatečnou půdní výživou. Je-li v půdě ideální poměr prvků, je výhodné zachovat jejich koloběh uzavřený a využít bezodpadového hospodářství, tedy. pokud oddělené třapiny a výlisky zpracováváme na kompost, kterým pak zpětně vinici hnojíme. Živiny tak z části zůstanou ve vinici. Je-li některého z prvků nedostatek, přichází na řadu hnojení půdy a její obohacení. Pokud se stanovuje bilance koloběhu živin, je nutné počítat se ztrátami nastalými vlivem vymývání živin do spodnějších vrstev podloží. Vymývání závisí především na půdním druhu a typu, intenzitě a rozdělení srážek.

Tabulka č. 2 – Významné makro a mikroelementy

Makroelementy	N, K, P, Mg, Ca, S
Mikroelementy	B, Cl, Mn, Cu, Mo, Zn, Fe

Živiny se v půdě nacházejí v několika různých a různě vstřebatelných formách. Jsou to živiny obsažené přímo v půdním roztoku ve formě volných iontů které rostlina přijímá nejsnáze díky koncentračnímu gradientu a dále živiny vázané na půdní koloidy a adsorbované na povrch půdních částic, které jsou hůře pro rostlinu vstřebatelné. Faktory, které nejvíce ovlivňují vstřebatelnost živin rostlinou jsou pH půdy a teplota. Hnojení půd se liší jak typem tak i druhem půdy. V tabulce č. 2 jsou shrnuty makro a mikroelementy významné pro vinohradnictví [9].



Obr. č. 1 – Vliv pH na uvolňování iontů prvků do půdního roztoku (Podle Truoga 1951, převzato z [19])

2.3 Toxické a nutriční vlastnosti jednotlivých prvků

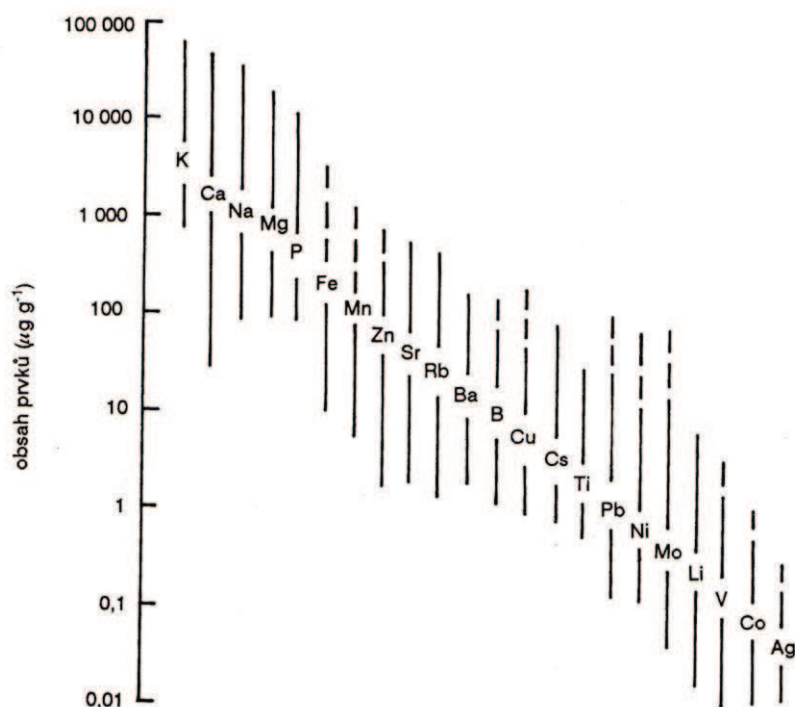
Prvky v půdě je výhodné sledovat především z důvodu výživy révy vinné v rámci živinné potřeby rostliny. Potřeba živin je pojem zahrnující celkové množství živin, které rostlina přijímá během vegetace pro svůj přirozený vývoj (vytváření letorostů, listů, květů, plodů) [9]. Prvky můžeme jako živiny rozdělit na:

- **Makroelementy**

Mezi makroelementy patří prvky přijímané rostlinou ve větším množství a jsou pro rostlinu nutričně velice důležité. Patří sem například uhlík, vodík, kyslík, fosfor, draslík, síra, vápník a hořčík.

- **Mikroelementy**

Mikroelementy jsou prvky pro vývoj rostliny důležité až esenciální, ale ne v tak vysokých koncentracích. Jejich přebytek i nedostatek se může projevit na rostlině poruchami růstu nebo nedostatečným vyvinutím rostlinných orgánů. Patří sem například železo, molybden, bor, měď, mangan, zinek, nikl, kobalt aj. V této práci byly sledovány především mikroelementy a jejich toxické a nutriční vlastnosti [9].



Obr. č. 2 – Obsah jednotlivých prvků v rostlinách a naznačení možného rozsahu jeho hodnot (podle Mitchella 1954, převzato z [19])

2.3.1 Měď

Měď je pro všechny živé organismy esenciální prvek, je součástí mnohých metaloenzymů (cytochrom-C-oxidasa, hemokuprein) [2]. Navzdory své esencialitě je měď ve vyšších dávkách toxická jak pro rostliny tak pro člověka [1]. Toxické jsou hlavně rozpustné (měďnaté) soli [2]. Vstřebávání mědi rostlinou závisí na mnoha faktorech, především pH. Jakmile je jednou vstřebána, těžko se z rostliny odstraňuje. Akumulace a projev intoxikace mědí je nejvíce patrná v kořenových pletivech [1]. K intoxikaci mědí dochází nejčastěji používáním fungicidů jako uhličitan měďnatý nebo naftenan měďnatý nebo spadem v oblastech těžby mědi [3].

2.3.2 Mangan

Mangan je esenciální prvek ovlivňující krvevstavbu [2]. V rostlinách je především součástí chloroplastů a primárním aktivátorem mnoha enzymů, např. transferáz, dehydrogenáz, hydroxyláz, zúčastňuje se i dýchání rostliny. V některých případech může být mangan nahrazen i jinými kovy (např. hořčíkem). Jeho dlouhodobější deficit může v rostlině způsobit poruchy ve fotosyntéze, protože se účastní přenosu elektronů [1]. Toxicita sloučenin závisí na oxidačním stavu. Obecně jsou toxičtější sloučeniny ve vyšším oxidačním stavu. Akutní otravy nejsou významné, chronické otravy patří mezi závažná onemocnění (manganismus – neurologické a neuro-psychické poruchy) [2]. V přírodě se mangan nejčastěji vyskytuje ve formě MnO_2 (jsou též známy formy Mn_2O_3 , Mn_3O_4) [1].

2.3.3 Nikl

Nikl je stopovým prvkem. U rostlin byla dokázána jeho esencialita a to v metabolismu močoviny, avšak autoři se s potvrzením jeho esenciality různí a to především v případě druhů, jež získávají dusík i z jiných zdrojů než z močoviny. Doposud bylo identifikováno sedm

enzymů obsahující nikl [1]. Z toxikologického hlediska je nikl zařazen mezi významné jedy. Je podezření na karcinogenitu hlavně u NiS, NiO a tetrakarbonyl niklu [2]. U rostlin se intoxikace projevuje podobnými příznaky jako v případě nedostatku železa nebo zinku. Na okrajích listů jsou zpočátku patrné četné chlorózy až nakonec rostlina umírá. Nikl se v čistých půdách vyskytuje v relativně malých koncentracích ($0,05\text{--}5,0\text{ mg.kg}^{-1}$), ke kontaminaci nad kritickou koncentrací (10 mg.kg^{-1}) může dojít z kalů [1].

2.3.4 Zinek

Zinek je jak pro člověka tak pro rostliny esenciální prvek, je součástí některých enzymů (dehydrogenasy, karboxypeptidasy). Při nedostatku zinku pozorujeme jevy jako např. špatné hojení ran, malý vzrůst a opožděné dospívání [2]. U rostlin je hlavním projevem nevyvinutost listů a mramorování na jejich povrchu. Problémy nastávají především při nižších teplotách půdy, kdy je zinek méně rozpustný a potom během teplejších měsíců není nutné speciálně zinkem dohnojovat. Je-li ho akutní nedostatek v půdě, je nutné ho do půdy dlouhodobě dopravovat, nárazové hnojení nemá dostatečný efekt. V přírodě se zinek vyskytuje ve formě rud, mezi nejdůležitější patří sfalerit ZnS , zinkit ZnO , smithsonit ZnCO_3 (kalamín), willemit ZnSiO_4 a hemimorfit $\text{Zn}_2(\text{OH})_2\text{SiO}_3$ [2]. Ve větších koncentracích se vyskytuje především v půdách poblíž průmyslových zón [1].

2.3.5 Kobalt

Kobalt je esenciální prvek obsažený ve vitaminu B_{12} , který ovlivňuje tvorbu červených krvinek. Nedostatek kobaltu se u skotu projevuje jako tuberkulosa plic označovaná na Novém Zélandě jako „bush sickness“ [2]. Pro rostliny je kobalt také esenciální. Rostliny přijímají kobalt ve formě vitaminu B_{12} a to díky půdním bakteriím a řasám, které vitamin B_{12} syntetizují. Kobalt v rostlinách napomáhá ke zpomalení stárnutí rostliny, k fixaci dusíku, odolnosti vůči vysušení, akumulaci alkaloidů aj. biosyntézám [1].

2.3.6 Vanad

Vanad ve stopových množstvích ovlivňuje činnost srdce. Otravy způsobuje prach oxidu vanadičného [2]. Pro rostliny je vanad prospěšným prvkem, při nízkých koncentracích stimuluje růst rostliny, při větších koncentracích v půdě rostlinu poškozuje. Intoxikace se může projevit například rudnutím listů. Větší obsah vanadu indukuje nedostatek železa v rostlině. Při nedostatcích železa může být vanad pro rostlinu prospěšný, protože je částečně schopen železo nahradit. Ke kontaminaci vanadem dochází ze spadlého popílku při spalování černého uhlí [1].

2.3.7 Chrom

Chrom je esenciální stopový prvek, zasahující do metabolismu cukrů (antidiabetický faktor) a tuků. Sloučeniny chromnaté a chromité jsou prakticky netoxické, některé mají místní leptavé účinky (vyrážky, vředy). Sloučeniny chromové jsou zodpovědné za toxicitu (silný oxidační účinek), přičemž rozpustné sloučeniny jsou karcinogenní a mutagenní. Významným antidotem je kyselina askorbová, která je redukcí převádí na netoxické sloučeniny Cr^{2+} a Cr^{3+} [2]. V rostlinách se chrom kumuluje především v kořenech, nejnižší obsah lze najít v zrna rostliny. Rostliny přijímají Cr^{VI} , který je však málo stabilní. Cr^{VI} stimuluje vývoj rostlin a kladně působí na metabolismus cukrů. Pro člověka je tato oxidovaná forma toxická (je karcinogenní)[1].

2.3.8 Olovo

Olovo je těžký kov který je znám svou toxicitou již od starověku (potrubí, glazury, pigmenty). Ve 20.století vlivem průmyslově hygienických opatření ve výrobní sféře poklesl podstatně počet akutních a chronických otrav. V posledních desetiletích však došlo ke zvýšené kontaminaci životního prostředí sloučeninami olova (antidetonační směsi, hutní průmysl, výroba olovnatého skla). Olovo poškozuje červené krvinky, ledviny a játra, CNS, svalstvo, u dětí zanechává psychické změny, je kumulativním jedem, ukládajícím se v kostech. Je podezřelým teratogenem a karcinogenem u plic a ledvin. Všechny rozpustné soli olova jsou vysoce toxické [2]. V sloučeninách se olovo vyskytuje nejčastěji jako dvojmocné. Jako čtyřmocné je mnohem méně stálé. V organokovových sloučeninách se vyskytuje pouze v oxidačním čísle IV [4]. Jako nejrozšířenější těžký kov se vyskytuje v půdě i vodách. Nejdůležitější rudy obsahující olovo jsou galenit PbS , cerusit $PbCO_3$ a anglesit $PbSO_4$ [4]. V půdě se olovo vyskytuje ve třech oxidačních stavech Pb^0 , Pb^{2+} , a Pb^{4+} [12, 15]. K intoxikaci rostliny olovem může dojít ze vzduchu přes listy nebo kořenovým systémem, kde se ukládá. V kořenové a listové zelenině potom dochází ke kumulaci o něco málo vyšší. Jeho distribuce je v rostlinách nerovnoměrná [5].

2.3.9 Kadmium

Kadmium je těžký kov a velmi toxický prvek, zvláště pro zárodečné buňky, je často příčinou neplodnosti. Způsobuje hlavně inhibici sulfhydrolových enzymů (vazbou na SH-skupinu) a kompetici s Fe, Zn a Cu. Cd se váže v játrech na metaloproteiny, zasahuje do metabolismu sacharidů a inhibuje sekreci inzulínu. Z potravy je denní dávka pro člověka 10-60 μg . Z kontaminované rýže se vyskytla v Japonsku nemoc Itai-itai (bolí-bolí) s následky zborcení kostí a poškozením jater a plic [2]. Ve sloučeninách se kadmium vyskytuje v oxidačním čísle II a má silný sklon k tvorbě komplexů. V přírodě se vyskytuje jako příměs zinečnatých rud, jako jsou kalamín a sfalerit. Zdrojem kadmia v životním prostředí jsou metalurgický průmysl, výroba pigmentů a elektrotechnický průmysl. V půdě se vyskytuje v množství pohybujícím se v rozmezí 0,01–15 $mg \cdot kg^{-1}$. V zeminách a podzemních vodách se převážně vyskytuje v oxidačním stavu Cd^{2+} [4],[6]. Rostliny kadmium přijímají především kořenovým systémem, příjem je vyšší v kyselějších půdách [5].

2.3.10 Arsen

Kovový arsen je nejedovatý, v organismu je však metabolizován na toxické látky, nejčastěji na oxid arsenitý. Nejvíce toxické jsou arsenitany, jsou to významné jedy s teratogenními a karcinogenními účinky (kůže i vnitřní orgány). Akutní otravy po požití jsou dnes řídké, projevují se během několika minut [2]. Přírodním zdrojem kontaminace může být vulkanická činnost nebo lesní požáry, jinak zdroje kontaminace půdy jsou výhradně antropogenního původu (hornictví, výroba kovů, spalování uhlí) přičemž nejdůležitější je v minulosti používání pesticidů obsahující arsen [5].

2.4 Legislativa týkající se zemědělských půd

Zákon České republiky, který se vztahuje na zemědělské půdy, je zákon č.334/1992 Sb. (zákon České národní rady o ochraně zemědělského půdního fondu). Zákon zahrnuje i půdy z vinic, definuje, popisuje a charakterizuje jednotlivé typy zemědělských půd [7], [8]. K tomuto zákonu se dále vztahuje vyhláška č.13/1994 Sb. Ministerstva životního prostředí, kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu. Dle §2 je

vymezen nejvýše přípustný obsah škodlivých látek v zemědělské půdě a v příloze č. 1 je konkrétní možná výše obsahu škodlivin vymezena [7], [8].

Jak již bylo výše zmíněno, ke kontaminaci zemědělské půdy nejčastěji dochází antropogenním působením. Proto se k půdě vážou i zákon č. 156/1998 Sb., o hnojivech, pomocných půdních látkách, pomocných rostlinných přípravcích a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech) [7] a vyhláška ministerstva životního prostředí č. 257/2009 Sb., o používání sedimentů na zemědělské půdě, kde je možné nalézt §2 limitní hodnoty rizikových prvků a rizikových látek v sedimentu a v půdě, na kterou má být použit, a biologické vlastnosti sedimentu, který odkazuje na přílohu č. 3, ve které jsou konkrétní limitní hodnoty rizikových prvků a látek.

Tabulka č. 3 - Obsah rizikových prvků v půdách (mg.kg⁻¹). Výluh 2 M HNO₃ (výluh roztokem 2 M HNO₃ při poměru půdy k vyluhovacímu 1 : 10)

Maximálně přípustné hodnoty		
Prvky	Lehké půdy	Ostatní půdy
As	4,5	4,5
Be	2	2
Cd	0,4	1
Co	10	25
Cr	40	40
Cu	30	50
Hg	-	-
Mo	5	5
Ni	15	25
Pb	50	70
V	20	50
Zn	50	100

Tabulka č. 4 - Obsah rizikových prvků v půdách (mg.kg⁻¹). Celkový obsah (rozklad lučavkou královskou)

Maximálně přípustné hodnoty		
Prvky	Lehké půdy	Ostatní půdy
As	30	30
Be	7	7
Cd	0,4	1
Co	25	50
Cr	100	200
Cu	60	100
Hg	0,6	0,8
Mo	5	5
Ni	60	80
Pb	100	140
V	150	220
Zn	130	200

Vysvětlivky k tabulkám č. 3 a 4

1. Údaje o obsahu rizikových prvků neplatí pro organické půdy.

2. Lehkými půdami se rozumí písčité a hlinitopísčité půdy podle analytické metody prof. Nováka (Komplexní metodika výživy rostlin č. 1/1990, vydaná Ústavem vědeckotechnických informací v zemědělství Praha).

3. K obsahu rizikových prvků v půdách (mg.kg⁻¹): Uvedené údaje platí pro směsné vzorky získané z horní vrstvy vyšetřovaných minerálních půd v tloušťce 0,25 m, vysušené na vzduchu do konstantní hmotnosti.

2.5 Legislativa týkající se vína

Na víno, vinnou révu a na výrobky z vinné révy se vztahuje především zákon č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o vinohradnictví a vinařství). Dále zákon č. 256/2011 Sb., kterým se mění zákon č. 321/2004 Sb., o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o vinohradnictví a vinařství), ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 452/2001 Sb., o ochraně označení původu a zeměpisných označení a o změně zákona o ochraně spotřebitele, ve znění pozdějších předpisů a platné vyhlášky č. 323/2004 Sb., kterou se provádějí některá ustanovení zákona o vinohradnictví a vinařství a č. 254/2010 Sb., kterou se stanoví seznam vinařských podoblastí, vinařských obcí a viničních tratí. Legislativa vinařství a vinohradnictví je rozšířena i nařízeními evropské komise (ES) a to č. 1601/1991 a dále č. 114/2009, č. 436/2009, č. 491/2009, č. 606/2009, č. 607/2009 a č. 702/2009 [7].

2.6 Metody prvkové analýzy, vývoj analytické metody

V současné době se v rámci instrumentální prvkové analýzy a analýzy půd nejčastěji používají spektrometrické metody. Metody atomové spektrometrie jsou jedny z nejstarších v instrumentální analýze a již Bunsen a Kirchhoff v polovině 19. století sledovali změnu zářivosti plamene v přítomnosti jiných prvků. Dle základních principů rozlišujeme atomovou emisní, atomovou absorpční a hmotnostní spektrometrii [11, 15].

2.6.1 Atomová emisní spektrometrie (AES)

2.6.1.1 Princip a instrumentace

Atomová emisní spektrometrie je metoda založená na sledování emise elektromagnetického záření volnými atomy látek v plynném stavu. Sledováním spekter můžeme prvky analyzovat jak kvalitativně, tak kvantitativně. Základní princip závisí na platnosti teorie o struktuře atomu. Atom určitého prvku má charakteristickou elektronovou konfiguraci. Dodáním vhodného kvanta energie může být energie absorbována a dojít k elektronovým přechodům nebo i uvolnění elektronu z atomu. Při přechodu elektronu zpět na nižší hladiny může být přebytečná energie uvolněna a vyzářena v podobě emise. Porovnání specifických spektrálních čar s knihovnou slouží ke kvalitativní analýze, intenzita čáry pak ke kvantitativní analýze. Atomový emisní spektrometr se skládá ze zmlžovače, budícího zdroje, detektoru a vyhodnocovacího zařízení (počítače). [11, 17]

2.6.1.2 Zmlžovače

Vzorek je nutné před přenesením do budícího zdroje tzv. zmlžít na aerosol. Zmlžovače dělíme dle principu na dvě základní skupiny – pneumatické a ultrazvukové zmlžovače. U pneumatického zmlžování vnášíme roztok do proudu nosného plynu, nejčastěji argonu, za vzniku aerosolu. Existují různé konstrukce od nejstarší soustředné, kde do proudu vzorku je

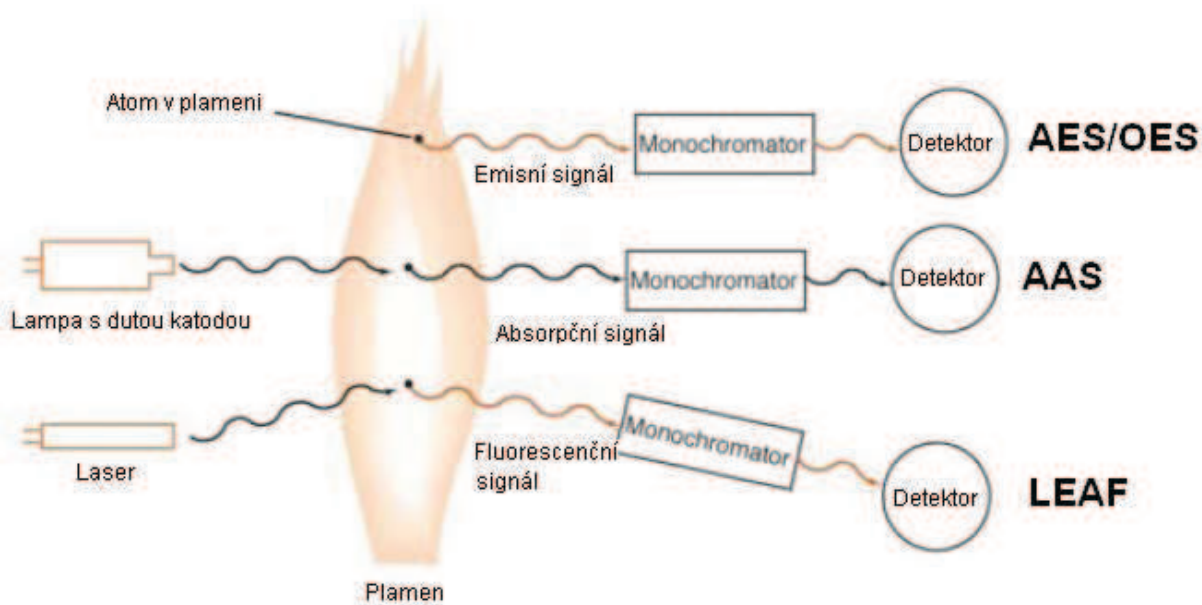
vnášen argon, nebo s kříženým tokem, kde se využívá podtlaku proudícího argonu, který natáhne vzorek a ve společné trubici se vzájemně smísí na aerosol. Velkou výhodou je jednoduchá a relativně levná konstrukce. Nevýhodou je nerovnoměrná distribuce částic aerosolu, což je vyřešeno ve směšovací komoře. Po zavedení aerosolu do směšovací komory se nám zachytí jak příliš velké tak příliš malé částice a přímo do atomizátoru nám prochází jen částice o určitém užší distribuci velikostí částic. Zbytek analytu odtéká jako odpad. Principem ultrazvukového zmlžovače je vytvoření rázové vlny energií akustických vln o dostatečné frekvenci, která způsobí rozptyl kapaliny do plynu, vytvoří se aerosol. Ultrazvukové zmlžování oproti pneumatickému má dvě základní výhody. Kapalně částice v aerosolu mají menší průměr a užší rozptyl velikostí částic. Účinnost převodu do aerosolu může být až 30 %. Není také třeba proudu plynu na vytvoření aerosolu. Avšak při aplikaci ultrazvukového zmlžení musíme dbát na rozptýlení aerosolu, protože by nám mohl příliš intenzivně chladit plazma. [11]

2.6.1.3 Budící zdroje

Jako budící zdroj, který atomům dodá dostatečnou energii k vyvolání emise, je nejčastěji používáno plamene, jiskrového výboje (*spark charge*), obloukového výboje (*arc charge*) nebo plazmy. Metoda plamenného buzení pracuje, ve srovnání s dalšími zdroji, při relativně nízké teplotě (2000-3000 °C) s dostatečnou citlivostí. Jiskrový a obloukový výboj jsou velice výhodnými budícími zdroji při rutinní analýze pevných látek. Jiskrový výboj je opakující se krátkodobý elektrický výboj, kdy dosahujeme teploty přes 10000 K, je dobře reprodukovatelný a je vhodný pro kvantitativní analýzu. Oproti tomu obloukový výboj vytvoří stálý elektrický oblouk o teplotě okolo 6000 K a je vhodnější pro kvalitativní analýzu. Často se užívá tzv. řízeného elektrického oblouku, což je periodicky přerušovaný elektrický oblouk. V současné době je nejužívanější metodou buzení indukčně vázaným plazmatem (ICP-*inductively coupled plasma*). Tato metoda umožňuje velice citlivou analýzu široké škály prvků a patří dnes mezi nejrozšířenější budící zdroje. Podrobněji bude popsána v kapitole 1.6.4.3. [11]

2.6.1.4 Detekce

U metody AES resp. OES je nutné změřit a zaznamenat vyzářené spektrum. Po vyzáření dané emise je záření rozloženo monochromátorem na fotony příslušné vlnové délky, které jsou následně detekovány. Jako detektor je nejčastěji použit emisní fotoelektrický článek. Ten pracuje na principu vnějšího fotoelektrického jevu, kdy foton z fotocitlivého materiálu katody vyrazí elektron, který dále putuje k anodě. Takto je možné účinně měřit vlnové délky mezi 150-800 nm. Častěji je v přístroji zabudován tzv. fotonásobič, který pracuje na podobném principu. Rozdíl spočívá v tom, že po vyrazení elektronu z katody naráží do dynody, odkud vyletí dva a více dalších elektronů, které následně pokračují k další dynodě, kde opět vyrazí několik dalších elektronů a takto nám geometrickou řadou stoupá množství elektronů, které poskytují odezvu ve formě elektrického signálu. Původně nejrozšířenější fotografická detekce se v důsledku zdlouhavého a složitého zpracování a vyhodnocování signálů používá jen zřídka a to pro plošnou informační kapacitu metody. Pro potřeby obrazového zpracování se v současné době používají vedle sebe uložené úzké diody (*diod array* – překládá se jako diodové pole), které současně umožňují simultánně měřit intenzity ve více oblastech spektra. [11, 17]



Obr. č. 3 – Schémata metod využívajících plamen jako atomizátor, převzato z [19]

2.6.2 Atomová absorpční spektrometrie (AAS)

2.6.2.1 Princip a instrumentace

Principem atomové absorpční spektrometrie (AAS) je absorpce vhodného elektromagnetického záření volnými atomy v plynném stavu. Tento princip vychází ze základních principů výstavby atomu. Dodáním správného kvanta energie může dojít k přechodům elektronů na diskrétní energetické hladiny, tzv. se excitovat. Přechod elektronu mezi těmito hladinami je spojen s příjmem či vyzářením energie podle Planckova vztahu

$$\Delta E = h \cdot \nu,$$

kde h je Planckova konstanta a ν je kmitočet vyzářeného nebo absorbovaného fotonu. Atomy mohou excitovat na vyšší hladiny absorbováním odpovídajícího fotonu nebo termickým buzením. V praxi měříme tok záření Φ . Na základě Lambert-Beerova zákona porovnáváme tok záření Φ_{tr} , které nebylo absorbováno a prošlo měrnou celou s volnými atomy (*transmission*), s tokem záření Φ_0 , které do cely vstupuje:

$$\Phi_{tr} = \Phi_0 \cdot e^{-(\kappa_\nu \cdot N \cdot l)},$$

kde κ_ν je spektrální absorpční koeficient, l je tloušťka absorbující vrstvy s celkovým počtem atomů N . Zavádí se veličina absorbance, která je definována vztahem:

$$A = \log \frac{\Phi_0}{\Phi_{tr}},$$

Jejím zavedením se dostává lineární vztah mezi fotometrickou veličinou A a počtem volných atomů N :

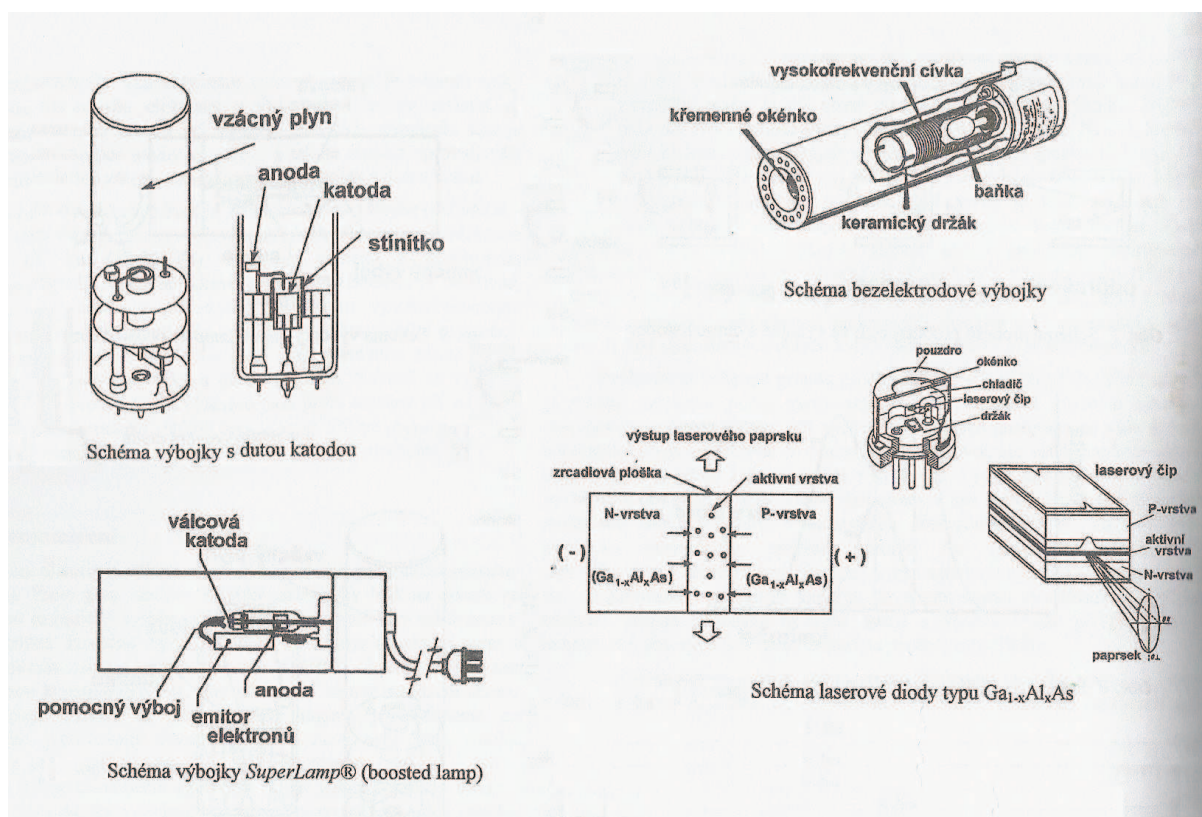
$$A = 2,303 \cdot \kappa_\nu \cdot l \cdot N.$$

Atomový absorpční spektrometr se skládá ze zdroje záření, atomizátoru a detektoru [11,16].

2.6.3 Zdroje záření

Jako zdroj záření se nejčastěji používá výbojka s dutou katodou (HCL - *hollow cathode lamp*). Katoda je vyrobená ze stejného materiálu jako stanovovaný prvek a je naplněna

inertním plynem (nejčastěji neon nebo argon). Dodáním vysokého napětí je v katodě buzen doutnavý výboj. Ionty vzácného plynu vyrážejí z jejího povrchu atomy, které jsou srážkami s ionty plnicího plynu a elektrony excitovány. Následně je při přechodu excitovaných atomů do základního stavu emitováno záření charakteristické pro daný prvek katody. Kromě jednoprvkových katod existují i víceprvkové (*multi-element lamp*), kde je použita stabilní kovová slitina prvku (např. Cr, Co, Cu, Fe aj.). Intenzita spektrálních čar je však nižší než u jednoprvkových lamp a mohou se objevit také spektrální interference. Novějším typem výbojky je SuperLamp (*boosted lamp*), která obsahuje ještě emitor elektronů, které bombardují vnitřní prostor válcové katody. Dosahuje se intenzivnějšího buzení a potlačuje se samoabsorpce atomy ve zdroji. Dalším typem zdroje záření je bezelektrodová výbojka (EDL – *electrodeless discharge lamp*). Výbojka se skládá z křemenné baničky, naplněné vzácným plynem za nízkého tlaku a malým množstvím stanovovaného prvku ve formě těkavé sloučeniny. Baňka je umístěna v cívce, která vytváří vysokofrekvenční pole. Pole vytváří v baničce stabilní prstencový náboj. Výbojky mají vyšší intenzitu záření, delší dobu životnosti než klasické výbojky a úzké emisní profily čar. Principiálně lze využít i xenonové či deuteriové výbojky. Tyto zdroje se však v běžné praxi neuplatňují. Přes vysokou intenzitu záření je spektrální interval jen málo ozářen. Jestliže potřebujeme citlivější detekci, můžeme jako zdroj záření použít laser o konkrétní vlnové délce, která odpovídá energii potřebné k excitaci atomů. Omezením pro aplikaci laserových diod je nedostupnost diod vyzařujících v UV oblasti (pod 400 nm), kde leží podstatná část analytických linií mnoha prvků. Metoda se nazývá laserem excitovaná atomová fluorescence (LEAF – *laser excited atomic fluorescence*). [16]



Obr. č. 4 – Zdroje záření používaných v AAS, převzato z [16]

2.6.3.1 Atomizátory

Nejjednodušším a nejstarším atomizátorem je plamenový atomizátor. Vzorek analytu je zmlžen a aerosol je smíšen s plynem a oxidovadlem a následně vnesen do plamene, kde proběhne samotná atomizace. Jako topné plyny se nejčastěji užívají směsi acetylen/vzduch, acetylen/oxid dusný, acetylen/kyslík, záleží na prvcích, které sledujeme a jakou teplotu plamene pro analýzu požadujeme. Kromě plamenového atomizátoru můžeme s výhodou užít i elektrotermický atomizátor (ETA), což je grafitová trubice vyhřívána elektrickým proudem [11] v ochranné atmosféře argonu popř. levnějšího dusíku. Vzorek se dává do středu trubice, kde se zahřeje podle teplotní fáze. První fází je sušení, kdy je ze vzorku odpařeno veškeré rozpouštědlo. Následuje fáze termické úpravy. Jejím hlavním cílem je odstranění matrice vzorku bez ztráty analytu. Předposledním krokem je atomizace. Posledním teplotním režimem je čištění. [16]

2.6.3.2 Uspořádání a detekce

Záření ze zdroje je vedeno a soustředěno systémem optických prvků do atomizačního prostředí s volnými atomy, kde se jeho určitá část absorbuje. Neabsorbovaný podíl záření je pak směřován do štěrbinu monochromátoru, který propustí jenom tu část obrazu, která není zatížena balastním zářením pozadí. Tento systém je nazýván spektrometrem. Po průchodu paprsku monochromátorem je signál jeho odezvy zesílen ve fotonásobiči, ze kterého je následně vyhodnocen vyhodnocovacím zařízením. AAS může mít uspořádání jedno nebo dvoupaprskové (tyto jsou nejčastější, existuje i maximální čtyřpaprskové uspořádání). U jednopaprskového uspořádání je záření rozloženo monochromátorem a následně měřeno jediným detektorem s časovým rozlišením. V druhém případě se paprsek pomocí zrcadlového přerušovače nebo děliče paprsku ze zdroje střídavě propouští před měrnou celou a kolem ní (paprsek je rozdělen na měrný a referenční paprsek). Oba paprsky se pak sloučí před vstupem do monochromátoru a jejich časově rozlišené signály jsou porovnávány. Jednopaprskové systémy jsou vhodné pro krátkodobá okamžitá měření (elektrotermická atomizace), dvoupaprskové systémy spíše pro dlouhodobější měření (plamenová technika) díky vyrovňování korekcí krátkodobých změn [11, 16].

2.6.4 Rentgenová fluorescenční spektrometrie

2.6.4.1 Princip a instrumentace

Rentgenová fluorescenční spektrometrie je nedestruktivní metoda využitelná v elementární analýze. Principem se jedná o interakci vzorku a rentgenového záření (ozáření a následná absorpce, emise, difrakce záření). Metoda, jak již bylo zmíněno, je nedestruktivní a je použitelná jak na pevné vzorky, tak kapalné vzorky. Nejčastější využití této metody je v rámci metalurgie a strojírenství na kontrolu složení oceli či v případě rentgenové absorpce na kontrolu svárů; využitelná je také v medicíně a kontrole životního prostředí (monitorování těžkých kovů v ovzduší).

2.6.4.2 Zdroje záření

Dnes nejčastěji užívaným zdrojem na vytvoření rentgenových paprsků je rentgenka. Jedná se o skleněnou trubici s katodou a anodou, ve které je hluboké vakuum. Katoda je tvořena žhaveným wolframovým vláknem, ze kterého vylétají elektrony. Jsou usměrňovány Wehneltovým válcem do jednoho bodu na anodě. Mezi katodou a anodou je napětí několik

desítek až stovek kilovoltů, které urychluje elektrony a ty velkou rychlostí dopadají na wolframovou anodu. Při dopadu se většina jejich kinetické energie mění na teplo a nepatrná část se mění na fotony rentgenového záření, vystupující z anody. Toto primární rentgenové záření následně dopadá na vzorek a budí sekundární rentgenové záření. To pak vstupuje do monochromátoru.

2.6.4.3 Detekce

Pro detekci užíváme detektorů plynových, scintilačních nebo polovodičových. Plynový detektor pracuje na principu ionizace plynu vstupujícím rentgenovým zářením. V detektoru mezi dvěma elektrodami o vysokém napětí (1,5-2,5 kV) je detekční (vzácný) plyn a zhasací plyn (methan). Jakmile dojde k příchodu fotonu, plyn je okamžitě ionizován a zhasací plyn zabráni lavinové ionizaci. Dojde k vytvoření změřitelného elektrického pulzu. U scintilačního detektoru používáme krystal NaI(Tl), který po interakci s rentgenovým zářením vyzáří světlo (scintilace), které detekujeme fotonásobičem (princip jeho funkce je popsán v kapitole 1.6.1.4.). Jako polovodičový detektor se používá křemík dopovaný lithiem. Krystal je pod malým stejnosměrným napětím a krystal vytvoří pozitivní a negativní zóny. Po dopadu rentgenového záření dojde ke vniku nábojů a obě zóny jsou vodivě propojeny, dojde k vytvoření elektrického proudu. Si(Li) detektory pracují za velmi nízkých teplot, jsou chlazené kapalným dusíkem nebo termoelektricky, aby nedošlo ke vzniku nosičů náboje tepelnou cestou, ale dopadem rentgenového záření. [11]

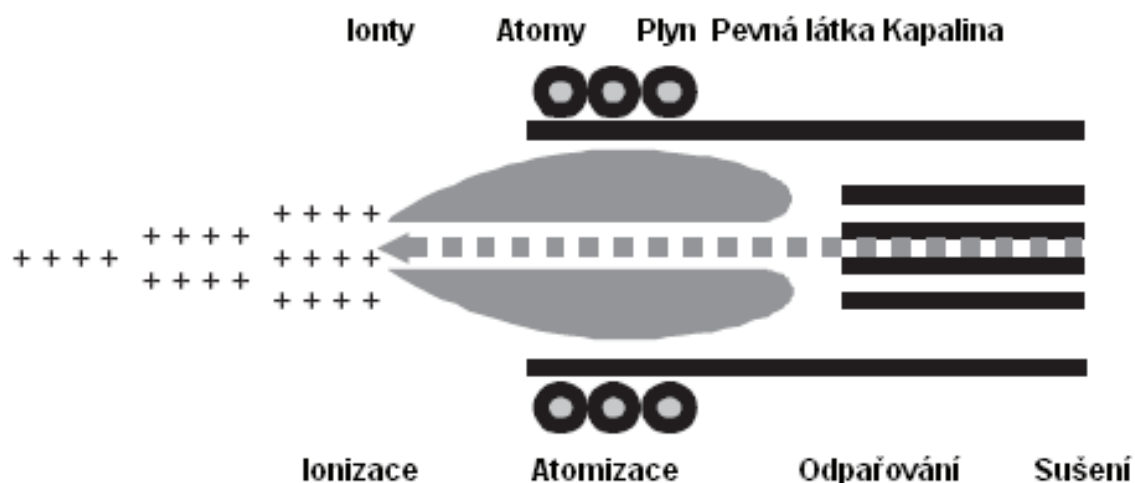
2.6.5 Atomová hmotnostní spektrometrie buzená indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)

2.6.5.1 Princip a instrumentace

Atomová hmotnostní spektrometrie buzená indukčně vázaným plazmatem, zkratkou ICP-MS, je metoda založená na vnášení analytického vzorku do plazmového hořáku, ve kterém je ve vysokofrekvenčním elektromagnetickém poli udržováno argonové plazma o teplotě 6000-10000 K. Do analytického kanálu plazmatu je vnášen aerosol vzorku, který je vysušen a suchý aerosol vzorku je vypařen, účinně atomizován a ionizován. Ionty z analytického kanálu vstupují malým otvorem v kuželovitém sampleru do předvakua a z tohoto plazmového paprsku prochází část malým otvorem v kuželovitém skimeru do vakua hmotnostního spektrometru s elektromagnetickými čočkami, popř. i kolizní celou. Soustředěný svazek iontů následně vstupuje do hmotnostního analyzátoru, který je podle poměru m/z v čase (TOF) nebo prostoru (kvadrupól) separuje. Po průchodu analyzátozem dopadají ionty na detektor, který převádí proud iontů na elektrický signál. ICP-MS se skládá ze zmlžovače (již zmíněno v kapitole 1.6.1.2.), plazmového hořáku, analyzátoru a detektoru. V současné době je to velice rozšířená metoda prvkové analýzy. [13]

2.6.5.2 Princip tvorby iontu

U ICP-MS je vzorek v kapalně podobě dopraven do zmlžovače a mlžné komory. Následně ve formě aerosolu putuje do plazmového hořáku, kde je vysušen, odpařen, zatomizován a ionizován. Ionizace probíhá v analytické oblasti plazmatu, která má teplotu přibližně 6000-7000 K. Energie v argonovém plazmatu je 15,8 eV což stačí na ionizaci většiny prvků periodické tabulky. [13]



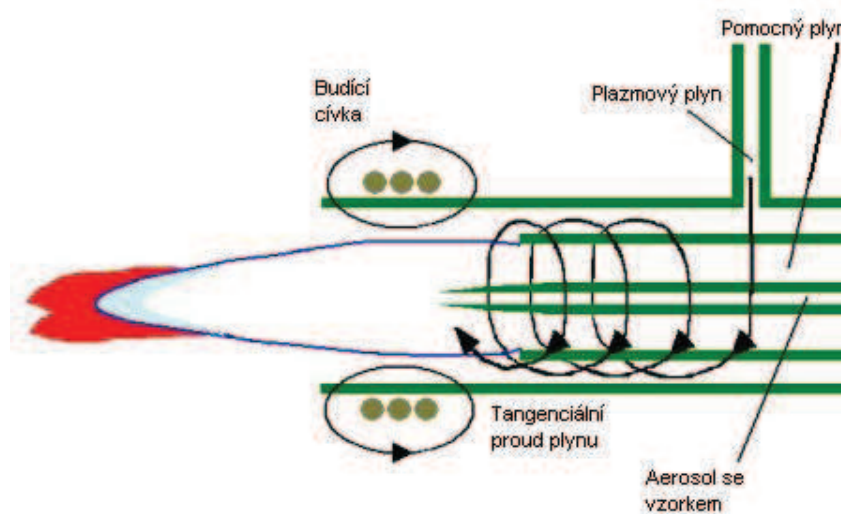
Obr. č. 5 – Plazmový hořák, převzato z [13]



Obr. č. 6 – Převod a přeměna prvku z kapalného vzorku na iont, převzato z [13]

2.6.5.3 Zdroj plazmy

Některé zdroje plazmy již byly zmíněny v kapitole 1.6.1.3. Plazmová hlavice u ICP se skládá z plazmového hořáku, vysokofrekvenční cívky a zdroje napájení. Hořák obsahuje tři trubice obvykle vyrobené z křemíku. Středovou trubicí proudí aerosol se vzorkem, v okolí této trubice proudí plyn pomocný (chladicí) a plyn použitý k tvorbě plazmatu se vpravuje do vnějšího prostoru okolo trubic. Jako pomocný, plazmový i nosný plyn obsažený v aerosolu se vzorkem, se používá argon. Plazmový plyn se vpravuje do hořáku spirálně. Na špici hořáku je měděná cívka o výkonu 0,8-1,5 kW. Cívka osciluje frekvencí 25-50 MHz a vytváří tak velice silné elektromagnetické pole okolo špice hořáku. Samotné plazma se zažehne vysokonapětovým výbojem. Výbojem dojde k uvolnění několika elektronů z argonu, které jsou potom elektromagnetickým polem urychleny.



Obr. č. 7 – Plazmový hořák, převzato z [19]

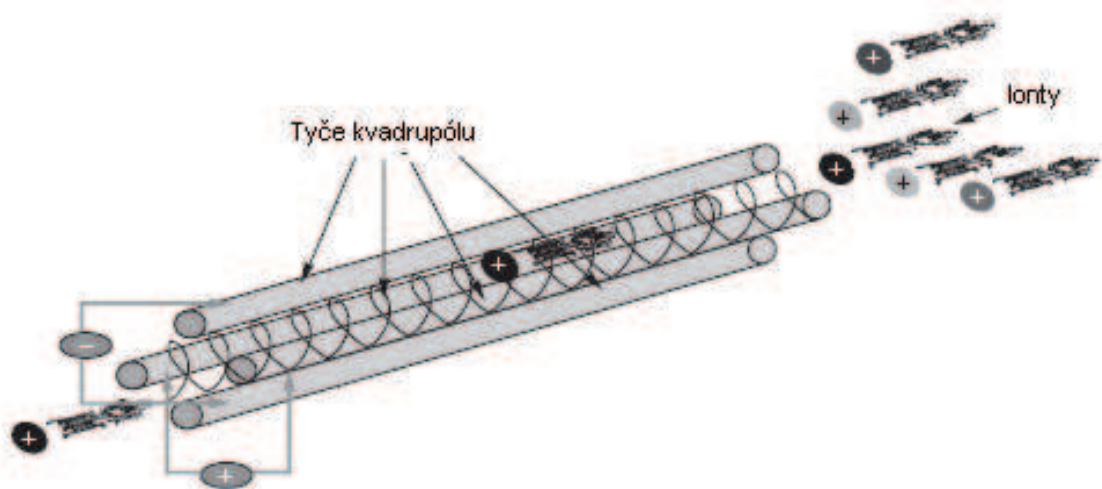
Tyto akcelerované elektrony potom kolidují s dalšími atomy argonu za uvolnění dalších elektronů. Tyto řetězové, indukčně vyvolané kolize vytváří směs elektronů, atomů argonu a iontů argonu, což nazýváme indukčně vázaným plazmatem. Potřebná energie na vyvolání ionizace argonu je 15,8 eV, což je dostatečná energie na ionizaci většiny prvků periodické tabulky. Aerosol se vzorkem je potom přiváděn do plazmatu injektorovou trubicí. [13]

2.6.5.4 Analyzátor

U metody ICP-MS probíhá nejdříve v hmotnostním analyzátoru separace částic na základě poměru jejich hmotnosti a náboje a následně jejich detekce. U klasické hmotnostní spektrometrie se využívá na separaci metod jako TOF (*Time of Flight*) nebo FT-ICR (*Fourier-Transform Ion Cyclotron Resonance*). Principem separace iontů v režimu Time of Flight (průletových) MS spektrometrů je přivedení iontů do akcelérátoru. Zde jsou v elektrostatickém poli urychleny, přičemž okamžitá rychlost při výstupu z akceleračního pole je nepřímo úměrná hmotnosti iontů. Ionty následně vstupují do průletové části, ve které se pohybují k detektoru částic. Na základě jejich hmotnosti v čase dopadají na detektor od nejtěžších částic po nejlehčí. Princip iontové cyklotronové rezonance s využitím Fourierovy transformace (FT-ICR) je založen na pohybu iontů v homogenním magnetickém poli. Kubická cela se skládá ze dvou záchytných desek (T), dvou excitačních desek (E) a dvou detekčních desek (D). Cela je umístěna ve středu supravodivého magnetu (indukce až 7 Tesla). Iont vletí do cely, kde je zachycen záchytným polem desek a následně po zavedení radiofrekvenčního napětí na vzájemně protější desky je iont excitován a putuje po kružnicové trajektorii. Na konci trajektorie putují k detekčním deskám jen ty ionty, které mají správný poměr m/z ladící s nastavenou frekvencí elektromagnetického pole. Tento typ analyzátoru je velice drahý a konstrukčně náročný, ale poskytuje velice citlivou analýzu. Často se používá kvadrupólový analyzátor. Kvadrupól tvoří čtyři rovnoběžné kovové tyče (z nerezové oceli nebo molybdenu, někdy potažené keramickým povlakem na ochranu proti korozi), elektrody napájené stejnosměrným napětím, vytvářející magnetické pole. Nastavení magnetického pole uvnitř kvadrupólu zajistí, že se k detektoru na konci analyzátoru dostanou jenom ty ionty, které mají požadovaný poměr m/z . V opačném případě iont narazí do stěny analyzátoru a k detekční oblasti se nedostane [11, 13, 18].

2.6.5.5 Detektor

V hmotnostní spektrometrii se jako detektoru užívá Faradayův kelímek (*Faraday cup*), elektronový násobič, kombinace scintilátoru a fotonásobiče nebo multikolektor. Faradayův kelímek má nízkou citlivost a velkou časovou konstantu. Konstrukčně je jednoduchý a používá se pro velké iontové toky. Elektronásobič funguje na stejném principu jako fotonásobič. Rozdíl je ten, že do detektoru nám nenarazí foton, ale iont, který vyrazí elektron, ten potom v další desce detektoru vyrazí dalších několik elektronů a takto řetězově potom přechází proud elektronů do zesilovače a je vyhodnocován. Jako detektor je velice citlivý a hojně používaný. U scintilátoru s fotonásobičem jsou ionty na konci dráhy urychleny pomocným elektrickým polem a dopadnou na scintilátor, jehož záblesky se registrují fotonásobičem. Je poměrně odolný proti znečištění velkými iontovými proudy. V tzv. multikolektorech se používají kombinace několika detektorů nebo plošné multikanálové detektory. Multikolektory jsou nutné pro stanovení přesných izotopových poměrů [11, 13, 18].



Obr. č. 8 – Kvadrupól, převzato z [13]

2.7 Extrakce vs. rozklady

Při analýze metodou ICP-MS jsou potřeba kapalně vzorky. Pro jejich přípravu existují dva základní postupy. Prvky z půdy je možné buď vyextrahovat, nebo můžeme půdu kompletně mineralizovat, rozložit, tedy převést vzorek z pevné fáze do kapaliny. Rozklad půd probíhá zpravidla v oxidačním prostředí. Dojde k mineralizaci organických látek, silikáty se odstraní odkouřením s kyselinou fluorovodíkovou a nerozpustné fluoridy se převedou do roztoku kyselinou boritou. Existují různé metodické postupy a varianty - práce v systému otevřeném nebo uzavřeném, využití ohřevu klasického nebo mikrovlnného, použití kyseliny chloristé apod. Velkou výhodou rozkladu půdy je nízká ztrátovost analytu. Rozkladem půdy jsou veškeré stanovované látky převedeny kompletně do roztoku. Jeho zásadní nevýhodou je řada omezení s ním spojených. Ta souvisí s užívanými chemikáliemi a bezpečnostními předpisy, které se vztahují na užívání kyseliny fluorovodíkové a chloristé. Postup dále limitují nízké náklady, kde se vyžaduje dokonalá homogenizace a velice jemné pomletí, což je dalším rizikovým bodem v případě možné kontaminace vzorku. Oproti tomu jsou metody extrakční. Jsou zpravidla jednoduché na přípravu extraktu, použití chemikálií, které jsou z hlediska ochrany životního prostředí i z hlediska bezpečnosti práce podstatně vhodnější. Ověření vhodnosti těchto postupů byla věnována celá řada prací. [12]

2.8 Příprava půdního vzorku

Primární obecné požadavky na vzorek jsou, aby byl reprezentativní, homogenní a nekontaminovaný [12]. Při odběru vzorku půdy musíme vzít v potaz především omezenou migraci složek. Ta závisí na složení půdy, typu a druhu půdy nebo rozpustnosti jednotlivých složek ve vodě. Ihned po odebrání se vzorek označí datem, označením místa odběru, jménem osoby, která provedla vzorkování, hloubkou odběru, popisem typu půdy a popřípadě hloubkou hladiny spodní vody [14]. Po odběru vzorku se převezde do příslušné laboratoře, kde je podroben vysušení a dalším úpravám.

2.9 Úpravy vzorku

2.9.1 Sušení a mletí půdy

Vzorky by se vlhké neměly skladovat déle než 48 hodin a při teplotě nepřevyšující 10 °C. Teplota sušení by neměla přesáhnout 40 °C. Sušení by mělo probíhat na suchém a větraném místě se zajištěním ochrany proti kontaminaci. Po vysušení vzorku se vzorek rozprostře a odstraní se z něj hrubší části skeletu, odstraní se veškeré rostlinné a živočišné zbytky. Poté se vzorek rozmělní. Rozmělnění se provádí mechanicky a to korundovým mlýnem nebo třením v achátové misce [12].

2.9.2 Sítování

Usušený a nahrubo namletý vzorek se dále podrobuje sítování. Obvykle se užívá síta s velikostí ok 2 mm, čímž odstraníme poslední kousky organického materiálu a hrubších nenamletých částic. V závislosti na metodice se vzorek může znovu mlít nebo třít a to tak, až vzorek projde oky síta o jmenovité délce strany oka 0,25 mm (popř. 0,15 mm). Jemnost vzorku je zmíněna a doporučena v normě ISO 11466 [12].

2.9.3 Kvartace

Kvartace je u sypkých materiálů určených k chemické analýze nejobvyklejším postupem dělení. Při kvartaci se vzorek navrství do tvaru komolého kužele, který se pak kvartačním křížem rozdělí na čtyři výseče. Dvě protilehlé výseče se odstraní jako odpad a ze zbývajících materiálů se vytvoří nový komolý kužel, který se stejným způsobem rozdělí a dvě protilehlé výseče se opět odstraní. V procesu se pokračuje dokud není vzorek zmenšen na požadovanou velikost [13].

2.9.4 Extrakce

Extrakce je v užším slova smyslu proces přechodu složky fázovým rozhraním mezi dvěma vzájemně nemísitelnými kapalinami. V širším smyslu tam zahrnujeme i další metody fázového látkového přechodu mezi látkami různých skupenství, jako v našem případě z pevného do kapalného. Kapalný půdní extrakt je pak možné podrobit další analýze [12].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Laboratorní vybavení

3.1.1 Chemikálie

- ultračistá deionizovaná voda (Pure Lab Watter)
- kyselina dusičná 67 %, ultrapure (Analytika Praha, ČR)
- peroxid vodíku 30 %, ultrapure (Lach-Ner, Neratovice, ČR)
- standardy prvků (Astasol, Analytika Praha, ČR)
- certifikované materiály půd: CRM CZ 7002 (lehká písčité půda, zvýšený obsah rizikových prvků, Analytika Praha, ČR), CRM CZ 7004 (hlinitá půda, zvýšený obsah rizikových prvků, Analytika Praha, ČR)

3.1.2 Pomůcky

- běžné laboratorní sklo a vybavení
- třecí miska s tloučkem
- síta o jmenovité velikosti ok 2 a 0,25 mm (Preciselekt, s.r.o., ČR)
- mikropipeta (Thermo Scientific, Waltham MA, USA)
- papírové filtry, hustota pórů 84 g/m² (Munktell, Německo)

3.1.3 Přístroje

- topná deska H52 (Gerhardt Analytical Systems GmbH, Königswinter, Německo)
- vařič ETA 2107 (ETA a.s., Praha, ČR)
- třepačka GFL 3006 (Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Německo)
- analytické laboratorní a digitální váhy AND HA-202M (A a D Company, Tokio, Japonsko)
- jednotka pro přípravu ultračisté deionizované vody Pure Lab Classic UV (Elga, Marlow, Velká Británie)
- mikrovlnný rozkladný systém Milestone 1200 s karuselem na 6 vzorků (Milestone, Shelton, USA)
- Autosampler ASX 520 (Cetac, Omaha, USA)
- ICP-MS Thermo X-seriesQuad (Thermo Elemental, Winsford, UK)

3.2 Vybrané extrakční metody

Pro porovnání vybraných extrakčních metod bylo využito certifikovaných materiálů půd. Vzorky CRM byly extrahovány ve dvou sériích o dvou různých navážkách v rámci ověření vlivu množství vzorku na účinnost extrakce a zároveň k zajištění dostatečné koncentrace analytu ve vzorcích pro analýzu na ICP-MS. Celkem byly provedeny čtyři extrakční metody. Později na základě výsledků byla nejvhodnější technika aplikována na reálné vzorky viničních půd.

3.2.1 Extrakce 2 M HNO₃ za studena

Do uzavíratelných plastových nádobek o objemu 250 ml byly naváženy vzorky certifikovaných materiálů o hmotnostech 0,5 a 2 g, k nim bylo přidáno 50 ml kyseliny dusičné o koncentraci 2 mol.l⁻¹. Kontejnery byly ručně protřepány a ponechány přes noc (16 h)

k extrakci. Dalšího dne byly vzorky ručně protřepány, rozrušen sediment a na 60 min umístěny na třepačku. Po ukončení extrakce byly vzorky zfiltrvány.



Obr. č. 9 – Vzorky extrakce 2 M HNO₃ za studena

3.2.2 Extrakce 2 M HNO₃ za horka dle Anderssona

Do Erlenmayerových baněk s plochým dnem byly odváženy vzorky certifikovaných materiálů o hmotnostech 0,5 a 2 g. Poté bylo přidáno 50 ml kyseliny dusičné o koncentraci 2 mol.l⁻¹ a baňky byly upevněny do stojanu s vodní lázní. Extrakce za horka probíhala 120 min bez míchání v digestoři. Po ukončení extrakce byly baňky vyjmuty z lázně, ponechány ke krátkému zchladnutí na vzduchu a poté byl jejich obsah kvantitativně převeden a zfiltrován do odměrných baněk a vzorky byly doplněny na celkový objem 100 ml.



Obr. č. 10. – Vzorky extrakce 2 M HNO₃ za horka

3.2.3 Extrakce Lučavkou královskou

Do Erlenmayerových baněk s plochým dnem byly naváženy vzorky certifikovaných materiálů o hmotnostech 0,5 a 2 g. Za opatrného jemného promíchávání bylo přidáno 21 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové a se stejnou obezřetností 7 ml koncentrované kyseliny dusičné. Suspenze byla ponechána ke stání přes noc (16 h) a poté mírně zahřívána na topné desce po dobu 120 min. Po zchladnutí byl obsah baněk kvantitativně převeden a zfiltrován do odměrných baněk a doplněn na celkový objem 100 ml.



Obr. č. 11. – Vzorky extrakce Lučavkou královskou, konec extrakce

3.2.4 Extrakce směsí kyseliny dusičné a peroxidu vodíku podporované mikrovlnným zářením

Extrakce půd byly provedeny pomocí mikrovlnného rozkladného systému Milestone 1200. Do teflonových patron byly naváženy vzorky certifikovaných materiálů o hmotnosti 0,5 g. K vzorkům bylo přidáno 5 ml kyseliny dusičné o koncentraci 67 % a 2 ml peroxidu vodíku o koncentraci 30 %. Patrony byly umístěny do bubnu rozkladného mikrovlnného systému. Extrakce probíhala dle programu (tab.5) doporučeného výrobcem zařízení. Po ukončení programu byly všechny vzorky kvantitativně převedeny z patron a zfiltrovány do odměrných baněk a doplněny na celkový objem 25 ml.

Tabulka č. 5 – Program mikrovlnného rozkladu (Milestone)

krok	čas [min]	výkon [W]
1	2	200
2	5	400
3	5	0
4	5	400
5	3	600
ventilace	15	0

3.3 Aplikace na vzorek reálný vzorek půdy

3.3.1 Vzorkování půdy

Vzorky půdy byly odebrány ve vinici poblíž obce Ivaň v okrese Brno-Venkov. U každého druhu vína byly provedeny tři vrty a to ve dvou různých hloubkových horizontech. Mělký horizont o hloubce 0-20 cm a hlubší o hloubce 20-40 cm pod povrchem. Vzorky byly dopraveny do laboratoře a před dalšími úpravami uskladněny.

3.3.2 Úpravy vzorku

3.3.2.1 Sušení a homogenizace vzorku

Vlhké vzorky byly sušeny při laboratorní teplotě tak, aby nedošlo k jejich kontaminaci během manipulace. Suché vzorky byly poté utřeny v achátové misce. Usušený a nahrubo rozmělněný vzorek byl podroben síťování. Bylo užito síta s velikostí oka 2 mm, pro oddělení hrubých částic a organických zbytků, a následně síta o jmenovité velikosti ok 0,25 mm.

3.3.2.2 Kvartace

Vzorek byl navrstven do tvaru komolého kužele, který byl pak kvartačním křížem rozdělen na čtyři výseče. Dvě protilehlé výseče byly odstraněny a ze zbývajících materiálů byl vytvořen nový kužel, který byl stejným způsobem rozdělen a dvě výseče byly opět odstraněny. Kvartace byla opakována do získání požadovaného objemu vzorku.

3.3.2.3 Extrakce

Zvolenou metodou extrakce 2 M kyselinou dusičnou za horka dle Anderssona bylo extrahováno 5 nezávislých vzorků půdy odebraných z vinice. Byla zvolena navážka 0,5 g vzorku, která byla extrahována za horka 50 ml roztoku 2 M kyseliny dusičné. Všechny vzorky byly následně zfiltrány do baněk o objemu 100 ml a doplněny po značku.

3.4 Stanovení prvků metodou ICP-MS

Měření bylo provedeno na přístroji ICP-MS na Fakultě chemické, VUT v Brně. Přesné parametry přístroje jsou uvedeny v tabulce č. 6. Vzorek byl dávkován pomocí autosampleru za využití peristaltického čerpadla. V tabulce č. 7 jsou shrnuty měřené izotopy prvků.

Tabulka č. 6 - Parametry přístroje ICP-MS

Přístroj	Thermo X-seriesQuad (Thermo Elemental, Winsford, UK)
Průtok argonu	Plazmový plyn 13 l·min ⁻¹ Pomocný plyn 0,7 l·min ⁻¹ Nosný plyn 0,9 l·min ⁻¹
RF výkon	1300 W
Zamlžovač	Typ Meinhard Peristaltické čerpadlo 50 rpm

Tabulka č. 7 – Měřené izotopy

Měřené izotopy prvků	51V	52Cr	55Mn	59Co	62Ni	65Cu	66Zn	75As	111Cd	208Pb
----------------------	-----	------	------	------	------	------	------	------	-------	-------

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

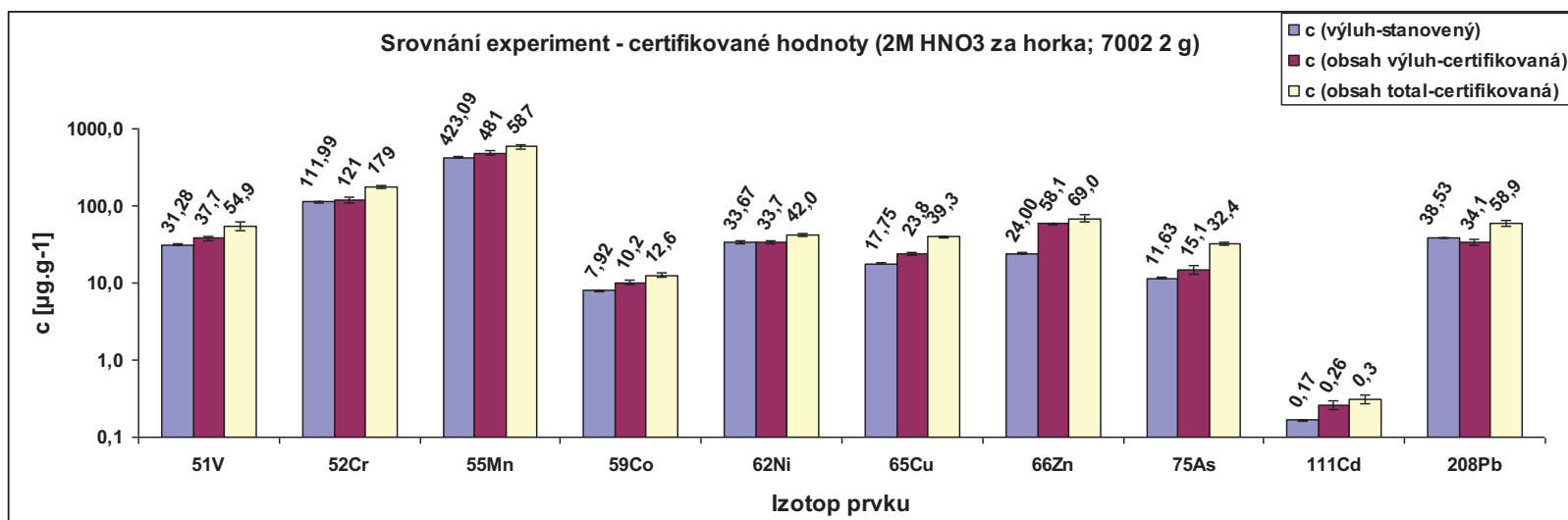
4.1 Porovnání extrakčních metod

Pro porovnání vybraných extrakčních metod bylo použito certifikovaných materiálů různých druhů půd. Na základě naměřených dat z provedených extrakcí bylo možno vzájemně porovnat účinnost jednotlivých metod, neboť k certifikovaným materiálům byly výrobcem dodány koncentrace jednotlivých prvků ve výluhu jednotlivých certifikovaných materiálů pomocí Lučavky královské, 2 M HNO_3 za studena a 2 M HNO_3 za horka. Výrobce certifikovaných materiálů neuvádí výsledky dosažené extrakcí pomocí minerálních kyselin a uzavřeného mikrovlnného rozkladu, výsledky dosažené touto extrakcí proto byly vztaženy na celkový certifikovaný obsah jednotlivých prvků v půdě, nebo byly porovnávány s certifikovanými výsledky jiných extrakcí.

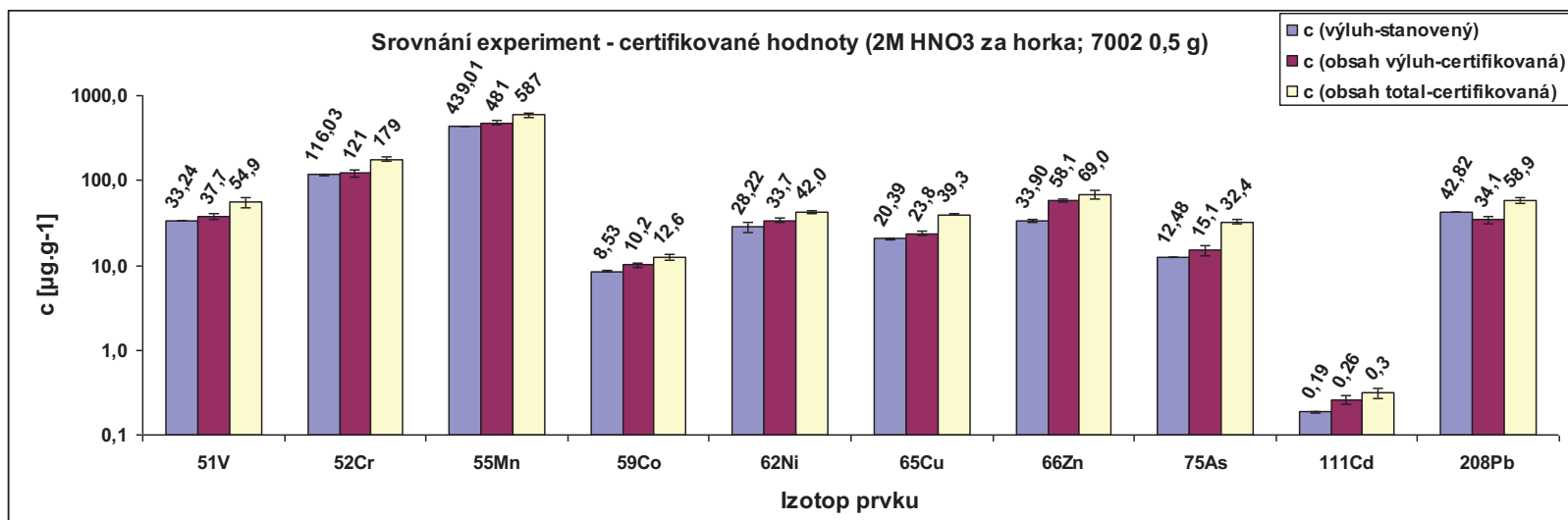
Porovnáním naměřených výsledků s certifikovanými hodnotami je možné konstatovat, že u všech extrakčních metod bylo dosaženo zhruba obdobných výtěžků. U některých prvků (nikl, vanad, olovo, arsen) přesahovala stanovená koncentrace 100 % certifikované hodnoty. Tato skutečnost byla pravděpodobně způsobena interferencemi při měření technikou ICP-MS.

Na základě dosažených výsledků byla jako nejvhodnější extrakční metoda vybrána metoda extrakce 2 M HNO_3 za horka. Přednost této metody spočívá v nízké spotřebě chemikálií, nižším času pro provedení extrakce a uspokojivých výtěžků extrakce. Celková doba extrakce trvala 2 hodiny, s přípravou vzorků a filtrováním extraktů doba extrakce v závislosti na množství vzorků nepřesáhne více než 4 hodiny. Z hlediska výtěžnosti byla efektivnější extrakce Lučavkou královskou, ale tato metoda je náročnější na chemikálie a celkový čas extrakce je delší. Použitím kyseliny chlorovodíkové je navíc analýza pomocí ICP-MS zatížena řadou interferencí.

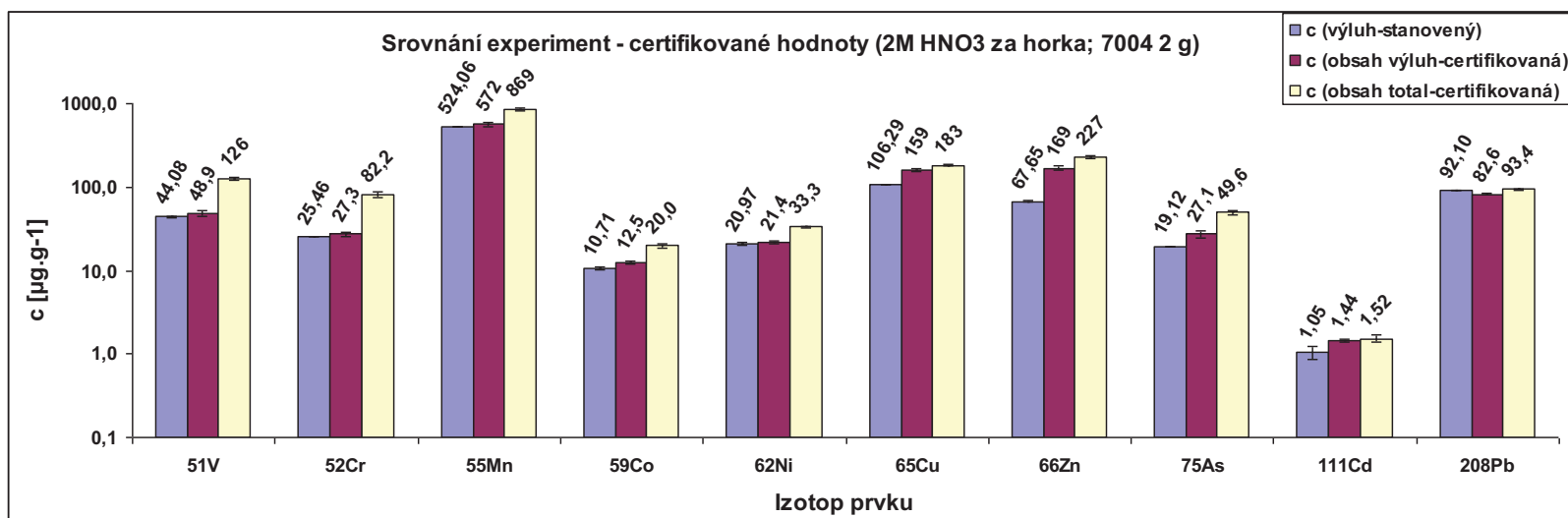
Kromě vzájemného porovnání extrakčních metod bylo také optimalizováno množství navážky vzorku pro extrakci. V experimentu byly použity navážky 2 g a 0,5 g, přičemž množství extrakčního činidla nebylo změněno. Lepších výsledků bylo dosaženo s navážkou 0,5 g. Při vyšší navážce již docházelo ke snížení výtěžnosti extrakce. Pro lepší výsledky by tak bylo zapotřebí zvýšit i množství extrakčních činidel. ICP-MS je metoda s velmi nízkými limity detekce, je proto možné že navážka vzorku pro extrakci by mohla být ještě menší než 0,5 g.



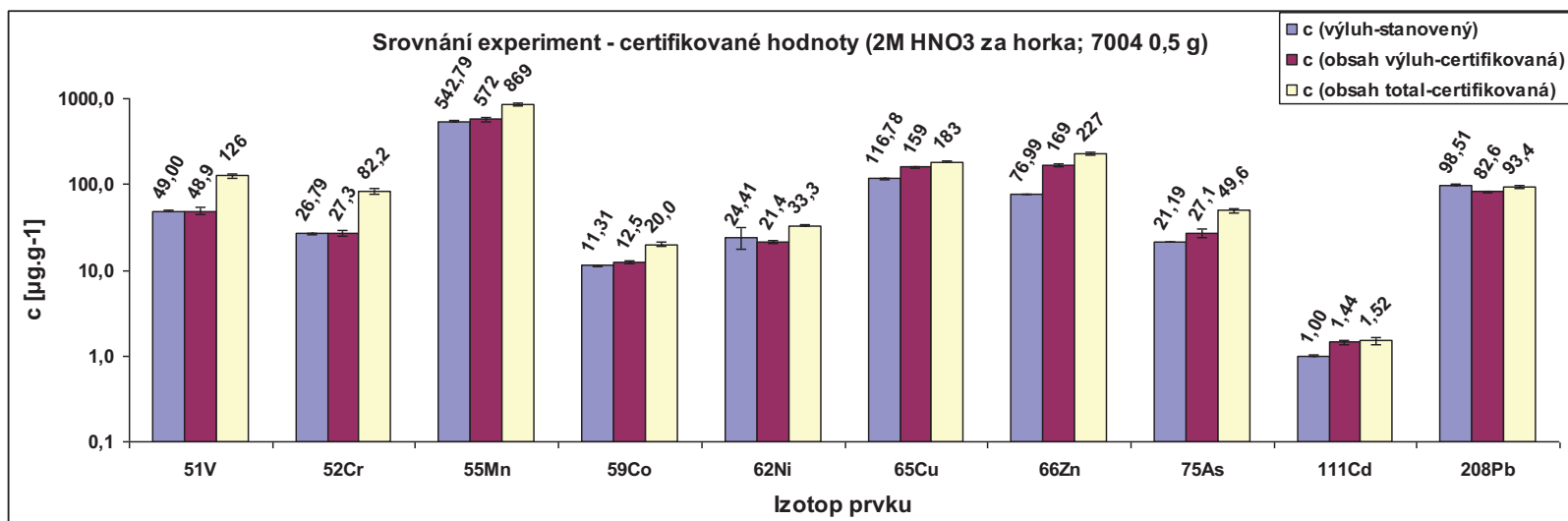
Graf č. 1 – Metoda 2 M HNO₃ za horka, navážka 2 g



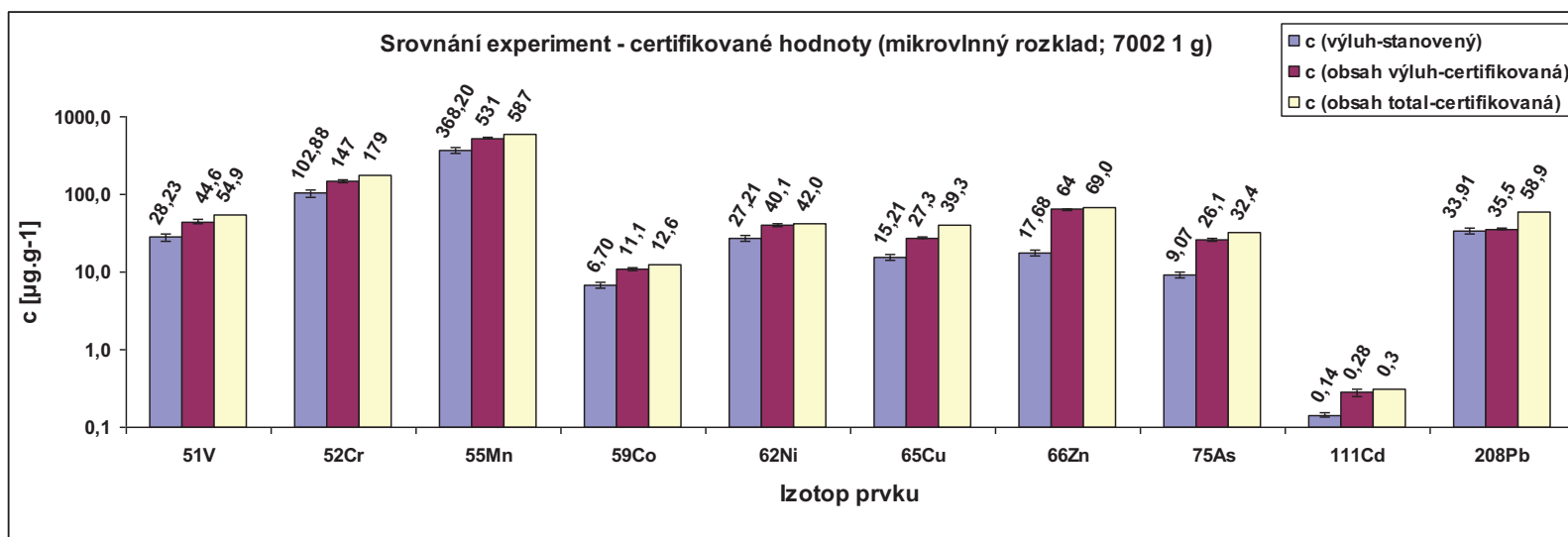
Graf č. 2 – Metoda 2 M HNO₃ za horka, navážka 0,5 g



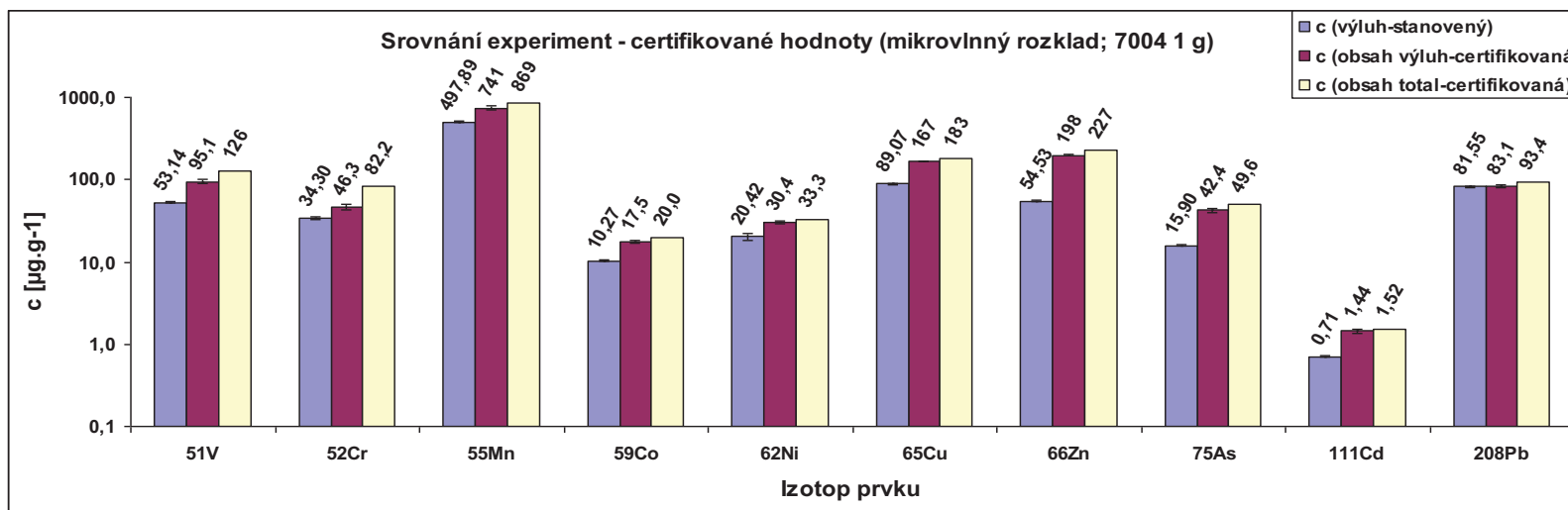
Graf č. 3 – Metoda 2 M HNO₃ za horka, navážka 2 g



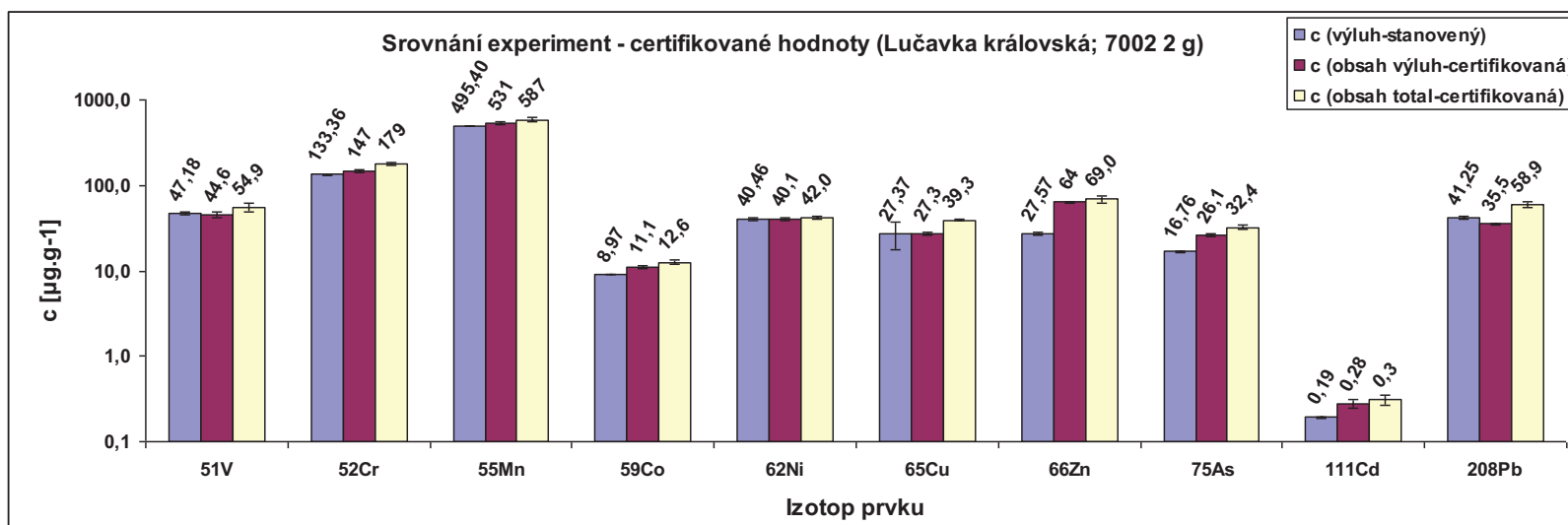
Graf č. 4 – Metoda 2 M HNO₃ za horka, navážka 0,5 g



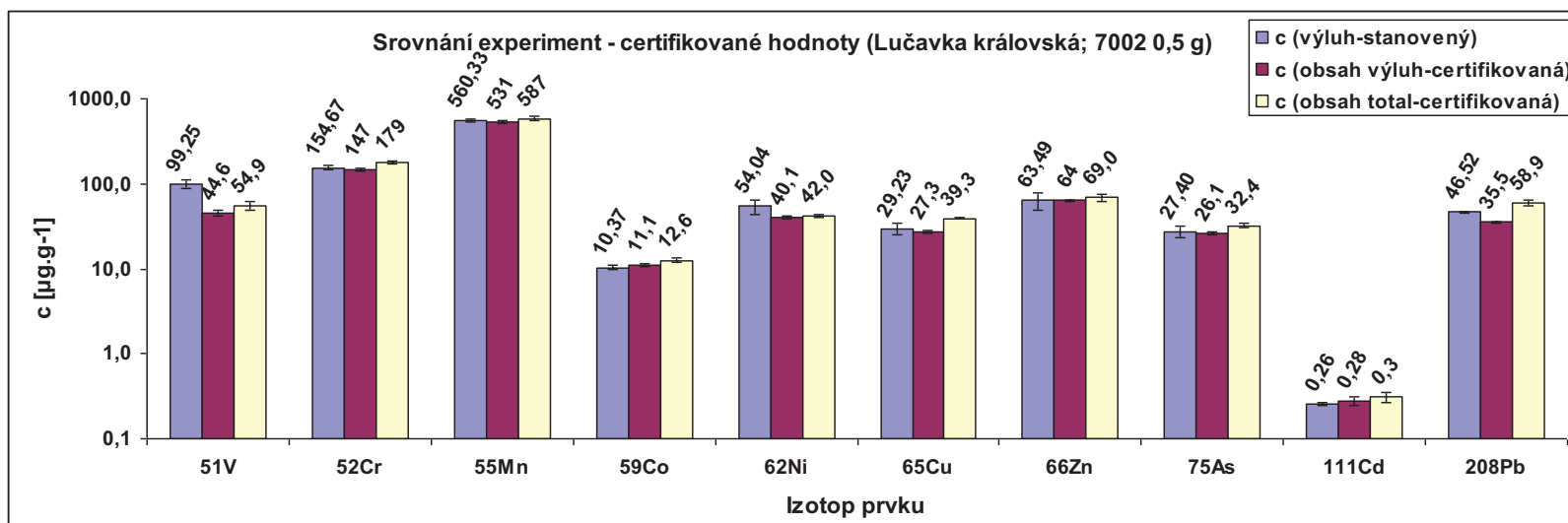
Graf č. 5 – Metoda mikrovlnného rozkladu, navážka 1 g



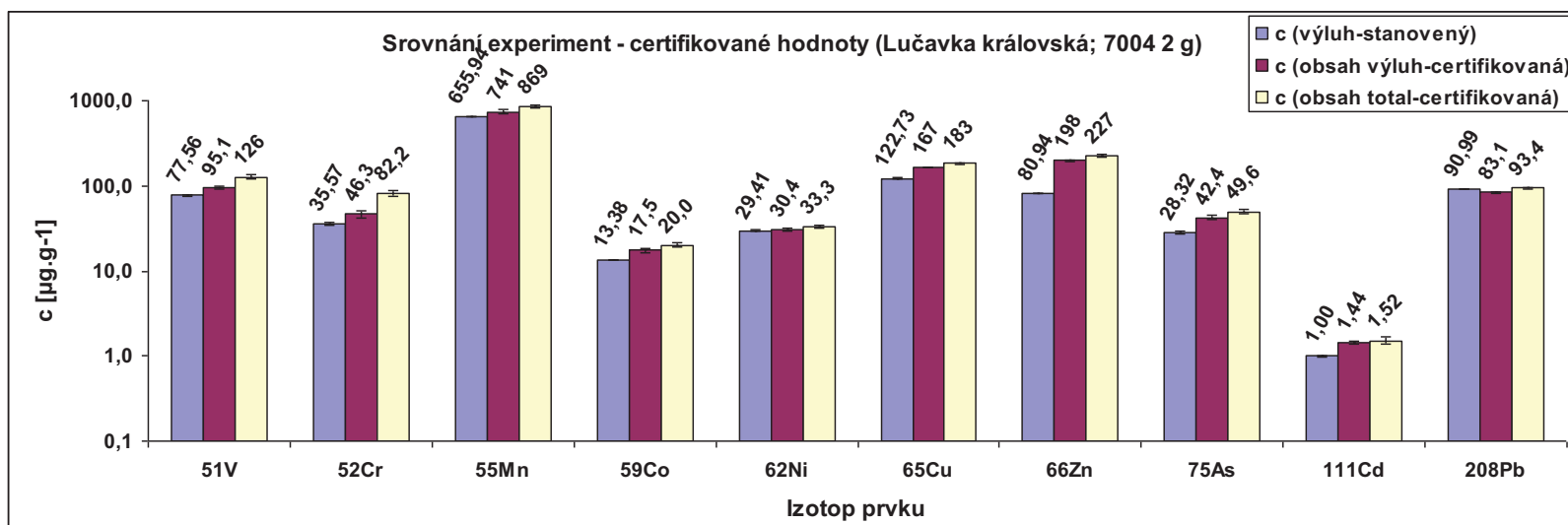
Graf č. 6 – Metoda mikrovlnného rozkladu, navážka 1 g



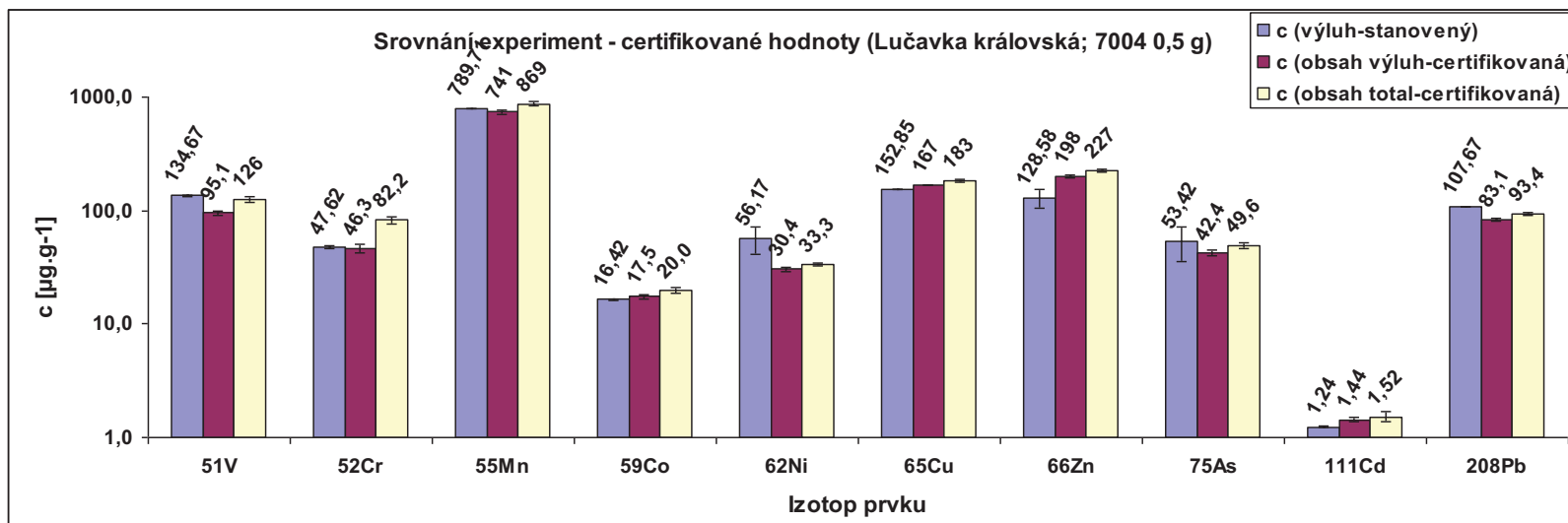
Graf č. 7 – Metoda extrakce Lučavkou královskou, navážka 2 g



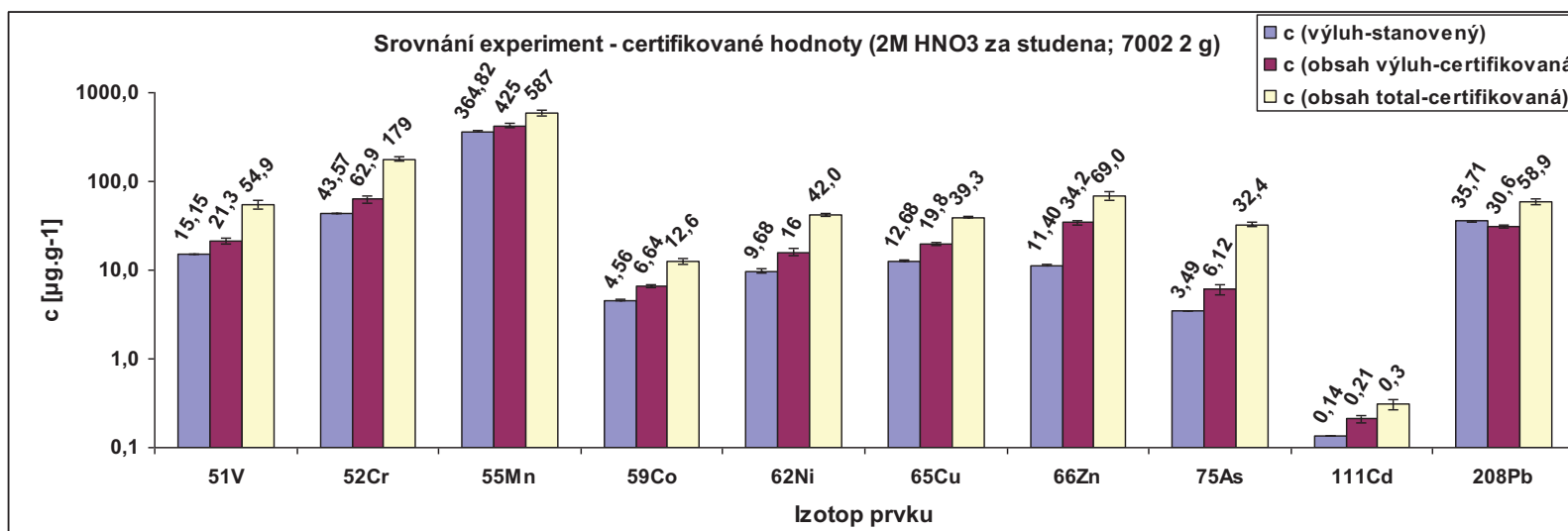
Graf č. 8 – Metoda extrakce Lučavkou královskou, navážka 0,5 g



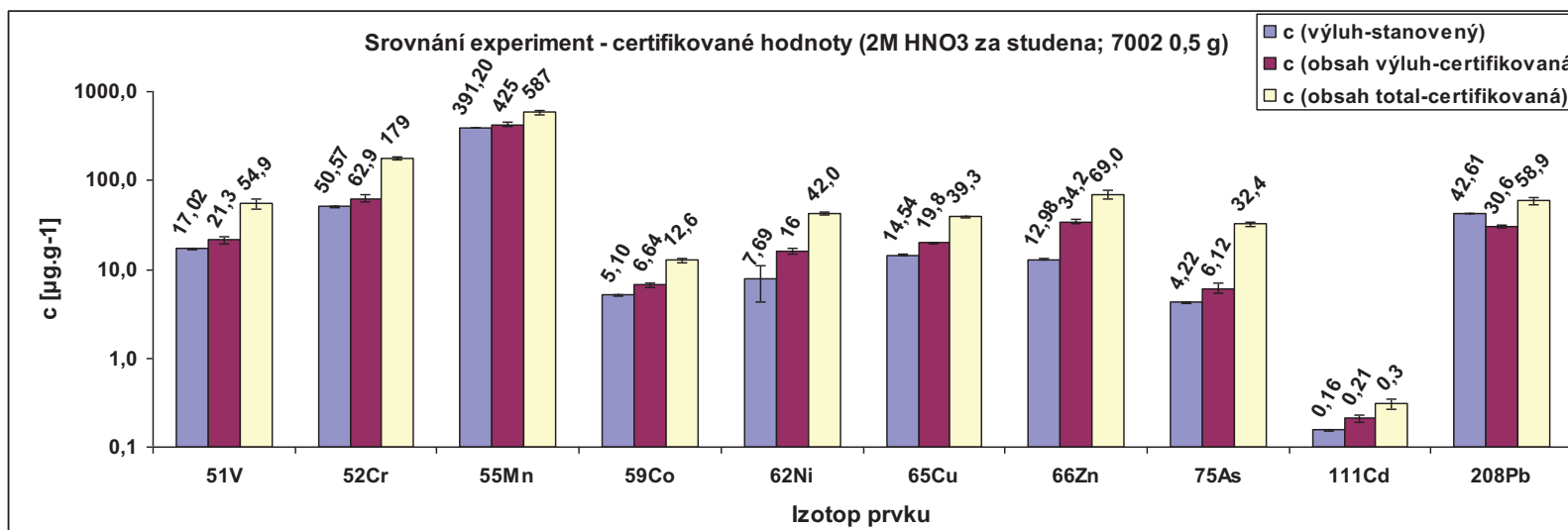
Graf č. 9 – Metoda extrakce Lučavkou královskou, navážka 2 g



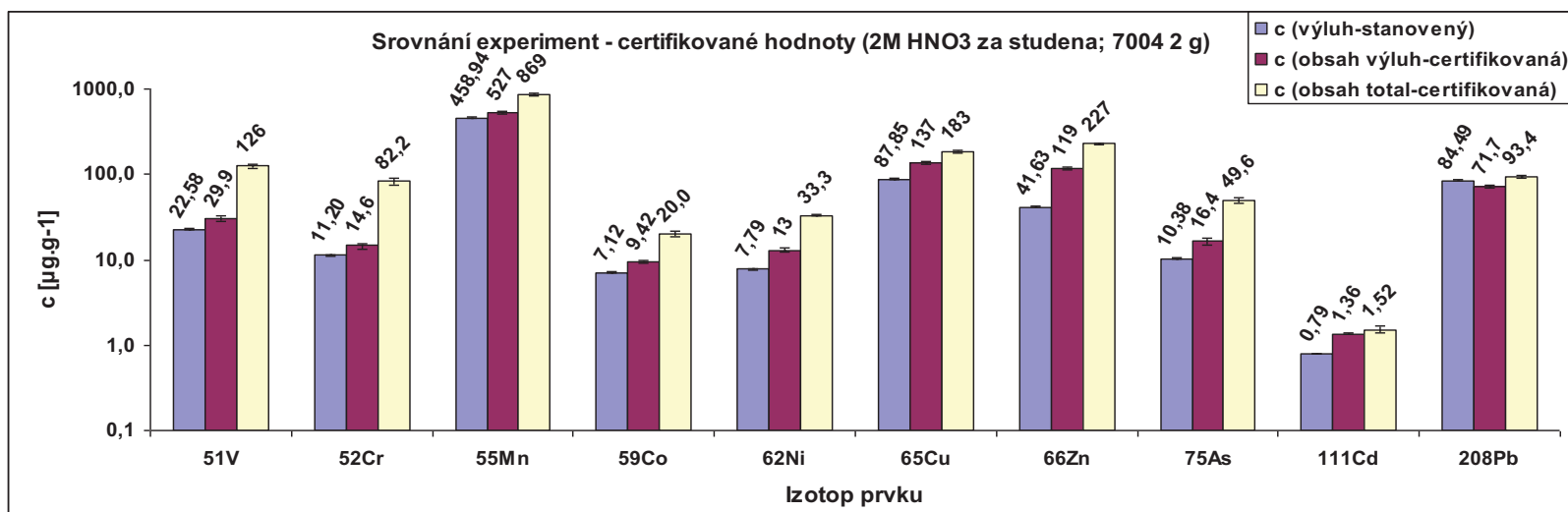
Graf č. 10 – Metoda extrakce Lučavkou královskou, navážka 0,5 g



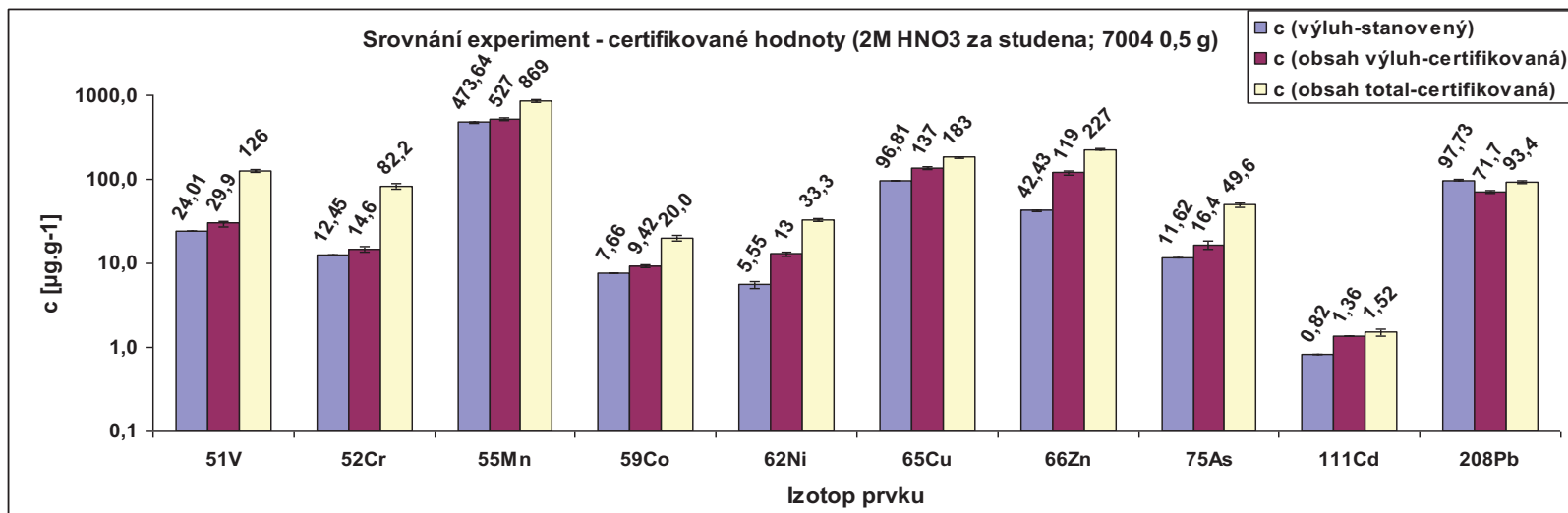
Graf č. 11 – Metoda 2 M HNO₃ za studena, navážka 2 g



Graf č. 12 – Metoda 2 M HNO₃ za studena, navážka 0,5 g



Graf č. 13 – Metoda 2 M HNO₃ za studena, navážka 2 g



Graf č. 14 – Metoda 2 M HNO₃ za studena, navážka 0,5 g

4.2 Porovnání výsledků s dostupnou literaturou

Porovnávání extrakčních metod vhodných pro prvkovou analýzu půd byla věnována řada prací. Kromě extrakcí, kde bylo použito anorganických činidel, existují a používají se i extrakce s organickými činidly. Nejčastěji je používána extrakce pomocí EDTA nebo DTPA. Méně často se potom využívá organických kyselin jako jsou např. kyselina octová, citrónová nebo šťavelová. Extrakcí roztokem, který obsahuje 15 % kyseliny octové, 1 % kyseliny dusičné a 10 µg/l ceru a barya, se zabýval Maranhão [22]. Maranhão ve své práci uvádí, že touto metodou je možné dosáhnout uspokojivých výsledků pro analýzu chrómu a prvků s vysokým ionizačním potenciálem jako jsou arsen nebo selen. Aydinalp [23] testoval extrakci kovů z půd pomocí DTPA. V závěru svého článku Aydinalp uvádí, že tato metoda je výhodná pro extrakci těžkých kovů z vápenatých půd, ale zároveň je velmi citlivá na pH extrakce. Použitím organických extrakčních směsí pro extrakci těžkých kovů z půdy se zabýval také Gheju [24]. V experimentu porovnával extrakční roztoky anorganických kyselin (dusičná a chlorovodíková), organických kyselin (šťavelová a citrónová) a EDTA. Nejvyšších výtěžků při extrakci EDTA bylo dosaženo u těžkých kovů (především olova) a zinku. Kyselina citrónová se ukázala být jako efektivní extrakční činidlo při extrakci chrómu a zinku. U ostatních prvků ani jedna z organických kyselin neposkytly nadstandardní výtěžnost v porovnání s jinými metodami. Organická extrakční činidla se ukázala být více specifitější než silné anorganické kyseliny. Extrakcí anorganickými kyselinami bylo dosaženo vysokých výtěžků v případě všech kovů kromě chrómu. Gheju uvádí, že je to pravděpodobně dáno samotnou matricí, protože většina chrómu se v matrici nachází v anorganické formě, která je k rozkladu či oxidaci méně náchylná než organická matrice. Mader et. al. [25] se zabýval použitím kyseliny fluorovodíkové a mineralizačního zařízení k extrakci půd. Marin [27] zkoumal metodu rozkladu s využitím mikrovlnného záření za pomoci různých extrakčních činidel. Konkrétně roztoky obsahující kyselinu chlorovodíkovou, fluorovodíkovou, dusičnou a peroxid vodíku v různých poměrech. Marin se zabýval vzorky půd z vinic z francouzské oblasti Champagne. Použitá navážka vzorku byla 0,3 g, tedy o něco nižší než byla použita v experimentální části této bakalářské práce. Mezi použitými extrakčními činidly byly pozorovány velké rozdíly v účinnosti extrakce, přičemž větší účinnosti bylo dosaženo pomocí kyseliny fluorovodíkové. Kyselina fluorovodíková je velmi silnou kyselinou, schopnou atakovat kovy vázané v hlinitých či křemičitých složkách půdy. Porovnáním metod s využitím mikrovlnného záření se rovněž zabýval Niemelä [28]. Niemelä porovnával především rozdíly při použití různých rozkladných programů a teplot. Programy příliš velké rozdíly ve výtěžnosti nevyvolaly, rozdíl byl však pozorován při aplikaci různých teplot. Největší pozorovatelné rozdíly v extrahovatelnosti prvků byly v rozmezí teplot mezi 140 °C-180 °C. Nad 180 °C už nebyly pozorovány žádné větší rozdíly v extrakci. Teplotní optimum pro extrakci bylo stanoveno na 160 °C.

4.3 Analýza reálných vzorků

Na základě výsledků v první části experimentu byla na reálné vzorky z vinice aplikována metoda extrakce 2 M HNO₃ za horka. Vzorky půd pocházely z vinice u obce Ivaň v okrese Brno-Venkov. Typem se jedná o hlinitopísčitou půdu. Obsah prvků v extraktu je shrnut v tabulce č. 6. Jejich koncentrace ve zkoumané půdě je v souladu s maximálními přípustnými hodnotami danými legislativou.

Tabulka č. 6 – Obsah prvků v extraktu

0-20	51V	52Cr	55Mn	59Co	60Ni	65Cu	66Zn	75As	111Cd	208Pb
	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g
směsný vzorek										
BIO	6,141	8,763	177,978	2,224	6,420	7,274	15,363	1,010	0,060	4,380
SD	0,130	0,198	3,621	0,022	0,165	0,218	0,689	0,024	0,005	0,195
Střed INT	8,172	11,441	130,319	2,105	8,067	5,212	18,532	1,731	0,055	3,785
směsný vzorek										
INT	0,460	0,700	2,143	0,113	0,457	0,309	0,841	0,813	0,003	0,104
20-40	51V	52Cr	55Mn	59Co	60Ni	65Cu	66Zn	75As	111Cd	208Pb
	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g
Směsný vzorek										
BIO	6,107	8,570	168,513	2,161	5,185	4,954	13,784	1,024	0,056	4,111
SD	0,036	0,144	2,666	0,027	0,336	0,023	0,325	0,061	0,002	0,066
Směsný vzorek										
INT	9,025	12,847	146,268	2,311	9,593	4,548	19,286	1,443	0,065	4,220
SD	0,309	0,399	5,227	0,126	0,246	0,137	0,124	0,098	0,003	0,118

5 ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo vypracovat literární rešerši a dále vybrat a optimalizovat vhodnou extrakční techniku pro prvkovou analýzu půd z vinic. Na základě naměřených dat pak provést porovnání jednotlivých technik a vybrat metodu pro analýzu reálných vzorků půdy z vinice. Teoretická část byla věnována popisu půd a půdních typů. Následně byly popsány toxické a nutriční vlastnosti zkoumaných prvků. Byly popsány jaký účinek má na rostlinu deficit či intoxikace jednotlivými prvky, jaké jsou limity intoxikace a jak tyto limity v půdách upravuje legislativa. V další části byly popsány metody prvkové analýzy, jejich základní principy a instrumentace, přičemž důraz byl kladen především na techniku ICP-MS. Nakonec byla diskutována metodika odběru a zpracování vzorků půdy z vinice.

V experimentální části byly na certifikované materiály půd aplikovány metody extrakce 2 M HNO_3 za studena a za tepla, extrakce lučavkou královskou a extrakce směsí HNO_3 a H_2O_2 s podporou mikrovlnného záření. Všechny extrakční techniky poskytly uspokojivé výsledky, jako nejvhodnější však byla vybrána extrakce 2 M HNO_3 za tepla. Jako optimální byla z několika testovaných navážek vybrána navážka 0,5 g vzorku. Dosažené výsledky byly porovnány s dostupnou literaturou. Pro extrakci půd je možné využít celou řadu extrakčních technik, každá z nich poskytuje lepší nebo horší výsledky pro jednotlivé prvky a je jinak časově náročná. Obecně lze konstatovat, že vybraná technika extrakce 2 M HNO_3 za tepla je dobrým kompromisem pro celou řadu prvků. Zvolená navážka byla srovnatelná s navážkami půd používanými v jiných studiích, pravděpodobně by bylo možné tuto navážku ještě snížit, vzhledem k vysoké citlivosti techniky ICP-MS používané k analýze extraktů.

Optimalizovaná metoda extrakce 2 M HNO_3 za tepla byla aplikována na reálné vzorky půd z vinice. Stanovené koncentrace vybraných kovů v extraktech půd byly porovnatelné pro různé hloubkové profily půd a nepřekračovaly limity pro obsah kovů v půdách z vinic dané platnou legislativou.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BARKER, Allen V. a David J. PILBEAM. *Handbook of Plant Nutrition*. Boca Raton, FL: CRC/Taylor, c2007, 613 s. ISBN 978-082-4759-049.
- [2] PALEČEK, Jaroslav, Josef HORÁK a Igor LINHART. *Toxikologie a bezpečnost práce v chemii*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1999, 189 s. ISBN 80-708-0266-9.
- [3] MATRKA, Miroslav. *Průmyslová toxikologie: Úvod do obecné a speciální toxikologie*. 2. nezměň.vyd. Pardubice: Univerzita Pardubice, 1994, 157 s. ISBN 80-851-1385-6
- [4] ŠEBKOVÁ, Michaela. *Koloběh vybraných kovových prvků v životním prostředí*. Brno, 2008. 32 s. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Hana Dočekalová, CSc
- [5] Toxické prvky. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze* [online]. 15.04.2008 [cit. 2012-02-12]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/koplikr/Toxick%C3%A9%20prvky.pdf>
- [6] LEPAŘ, Petr. *Speciační a frakcionační analýza kovů v zemědělských půdách*. Brno, 29.5.2009. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
- [7] *Ministerstvo zemědělství* [online]. 2009 [cit. 2012-02-12]. Dostupné z WWW: <http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/?tab=bulletin>
- [8] *Ministerstvo životního prostředí* [online]. 2008 [cit. 2012-02-12]. Dostupné z WWW: <http://www.mzp.cz/www/platnalegislativa.nsf/categories>
- [9] PAVLOUŠEK, Pavel. *Pěstování révy vinné: Moderní vinohradnictví*. Praha: Grada, c2011, 333 s. ISBN 978-80-247-3314-2 (BROŽ.)
- [10] Půdní typy. *Školní vzdělávací programy* [online]. 2004 [cit. 2012-05-01]. Dostupné z: <http://svp.muni.cz/ukazat.php?docId=223>
- [11] *Handbook of analytical techniques*. Weinheim: Wiley-VCH, 2001, 559 s. ISBN 35-273-0165-8.
- [12] ZBÍRAL, Jiří. *Analýza půd: jednotné pracovní postupy*. Vyd. 2., přeprac. rozš. Brno: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, 2002, 197 s. ISBN 80-865-4815-5.
- [13] THOMAS, Robert. *Practical guide to ICP-MS: a tutorial for beginners*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, c2008, 347 s. Practical spectroscopy, v. 33. ISBN 14-200-6786-9.
- [14] HORÁLEK, Vratislav. *Vzorkování I: obecné zásady*. 1. vyd. Český Těšín: 2 Theta, 2010, 131 s. ISBN 978-80-86380-53-7 (VÁZ.).

- [15] POPL, Milan, FÄHNRIČH, Jan. *Analytická chemie životního prostředí*. 4. přeprac. vyd. Praha : [s.n.], 1999. 218 s. ISBN 80-7080-336-3.
- [16] DOČEKAL, Bohumil. *Atomová absorpční spektrometrie: sborník přednášek z kurzu*. 2., upr. a dopl. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 2003, 164 s. ISBN 80-863-8016-5.
- [17] PLŠKO, Eduard. *Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem: sborník přednášek z kurzu 15.-17.6.1994 v Komorní Lhotce*. Český Těšín: 2 THETA, 1994, 224 s.
- [18] 6. kurz ICP spektrometrie: Brno 24.-26. května 2011. Editor Vítězslav Otruba. Brno: Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, 2011. ISBN 978-80-904539-1-3.
- [19] PROCHÁZKA, Stanislav. *Fyziologie rostlin*. Vyd. 1. Praha: Academia, 1998, 484 s. ISBN 80-200-0586-2.
- [20] Im-atomspekt. *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis* [online]. Olomouc, Czech Republic: Faculty of Physical Culture, Palacky University, 2004 [cit. 2012-04-04]. Dostupné z: <http://ach.upol.cz/user-files/intranet/im-atomspekt-1284989987.pdf>
- [21] ICP use. *School of Chemical Sciences* [online]. 2012 [cit. 2012-04-09]. Dostupné z: http://scheeline.scs.uiuc.edu/atomic_spectroscopy/images/icp-use.JPG
- [22] MARANHÃO, Tatiane de A. Analysis of acetic acid extraction solutions by inductively coupled plasma mass spectrometry for the classification of solid waste. *Microchemical Journal*. 2010, roč. 98.
- [23] AYDINALP, C. The comparison of extraction methods for evaluating some heavy metals in polluted soils. *Plant Soil Environ*. 2004, roč. 50, č. 5, str. 212-217, ISSN 1214-1178
- [24] GHEJU, Marius. Comparative heavy metal chemical extraction from anaerobically digested biosolids. *Hydrometallurgy*. 2010, roč. 108.
- [25] MADER, Pavel. Metody rozkladu biologických materiálů pro stanovení stopových prvků. *Chemické listy*. Praha: Česká společnost chemická, 1997, roč. 91. ISSN 0009-2770.
- [26] PAPASTERGIOS, Georgios, Jose-Luis FERNANDEZ-TURIEL, Anestis FILIPPIDIS a Domingo GIMENO. Determination of geochemical background for environmental studies of soils via the use of HNO₃ extraction and Q?Q plots. *Hydrometallurgy*. 2010, roč. 108. DOI: 10.1007/s12665-010-0894-7. Dostupné z: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s12665-010-0894-7>
- [27] MARIN, B., E.I.B. CHOPIN, B. JUPINET a D. GAUTHIER. Comparison of microwave-assisted digestion procedures for total trace element content determination in

calcareous soils. *Talanta*. 2008-10-19, roč. 77, č. 1, s. 282-288. ISSN 00399140. DOI: 10.1016/j.talanta.2008.06.023. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039914008004864>

- [28] NIEMELÄ. Microwave-assisted aqua regia digestion for determining platinum, palladium, rhodium and lead in catalyst materials. *Microchemical Journal*. 2011, roč. 101.

7 SEZNAM ZKRATEK

AES	Atomová emisní spektrometrie Atomic emission spectrometry
OES	Optická emisní spektrometrie Optical emission spectrometry
AAS	Atomová absorpční spektrometrie Atomic absorption spectrometry
ICP	Indukčně vázané plazma Inductively coupled plasma
LEAF	Laserem excitovaná atomová fluorescence Laser excited atomic fluorescence
HCL	Výbojka s dutou katodou Hollow cathod lamp
EDL	Bezelektrodová výbojka Electrodeless discharge lamp
ETA	Elektrotermický atomizátor Electrothermal atomizer
UV	Ultrafialové záření Ultra-violet light
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem Inductively coupled plasma mass spectrometry
TOF	Průletový analyzátor Time of flight
FT-ICR	Iontová cyklotronová resonance s využitím Fourierovy transformace Fourier transform ion cyclotron resonance
m/z	Poměr hmotnosti a náboje Mass and charge ratio
CRM	Certifikovaný referenční materiál Certified reference material
EDTA	Kyselina etylendiamintetraoctová Ethylenediaminetetraacetic acid
DTPA	Kyselina dietylentriaminpentaoctová Diethylenetriaminepentaacetic acid